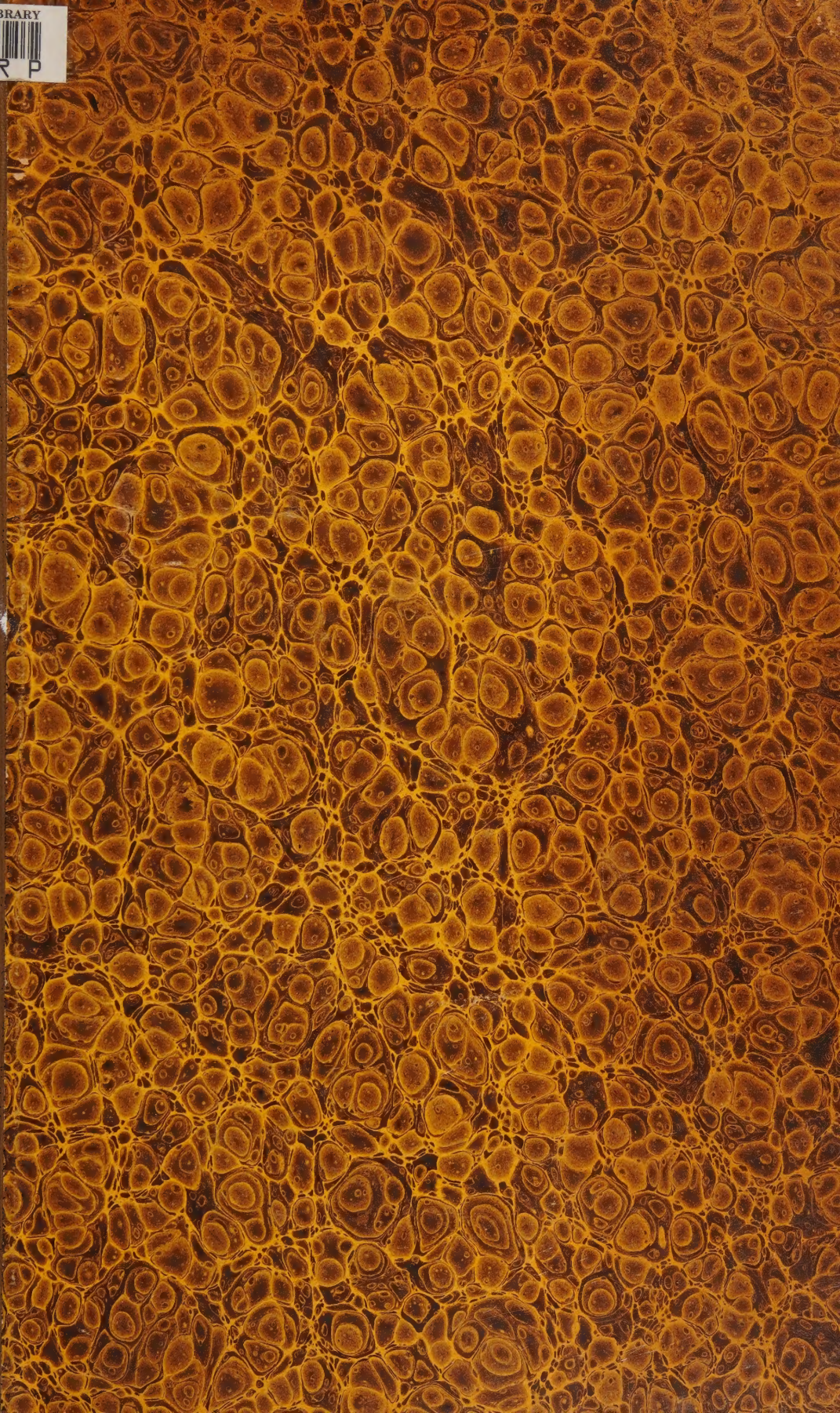
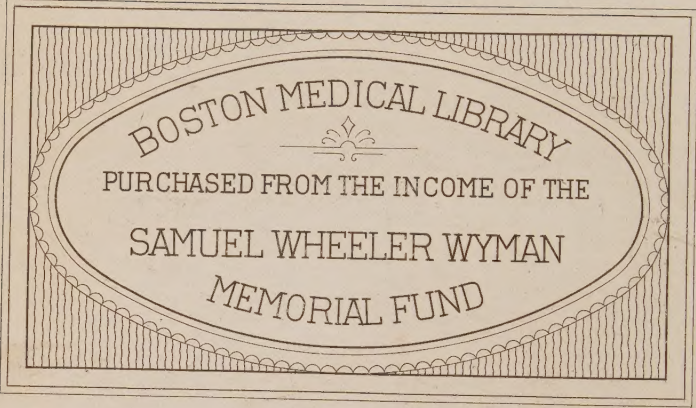


COUNTWAY LIBRARY



HC 4NSR P



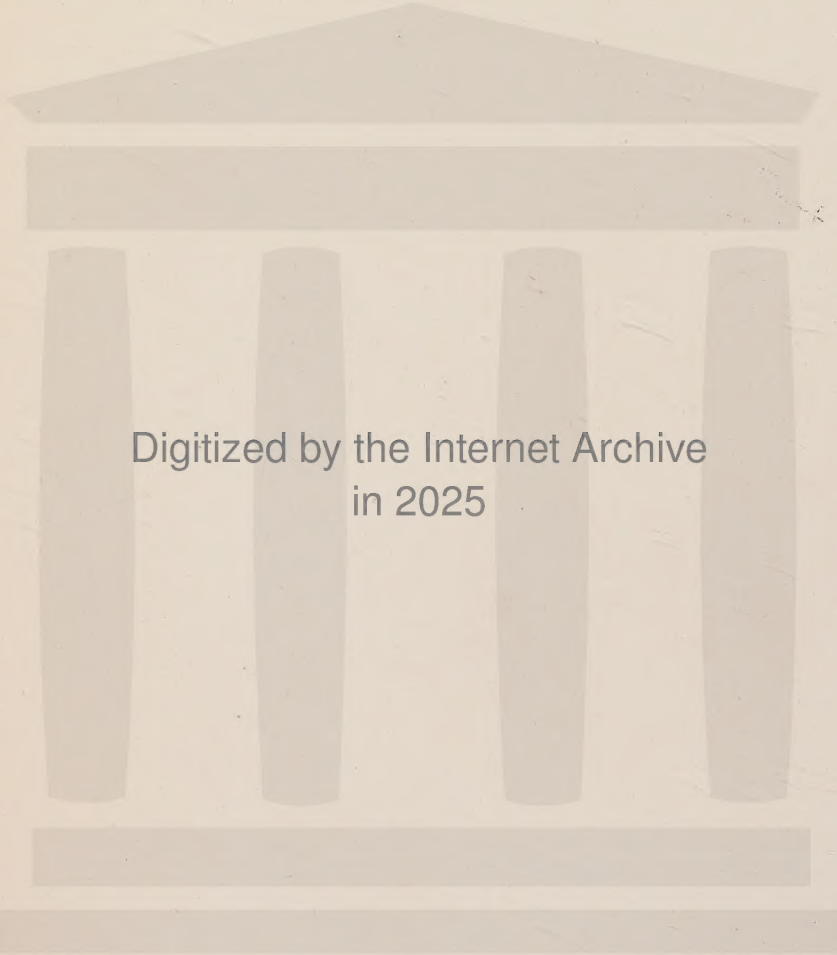


BOSTON MEDICAL LIBRARY

PURCHASED FROM THE INCOME OF THE

SAMUEL WHEELER WYMAN

MEMORIAL FUND



Digitized by the Internet Archive
in 2025

c
2
PROF. PAOLO FIORI

...

INFEZIONI GASSOSE

...

STUDIO

CLINICO, BACTERIOLOGICO, SPERIMENTALE

ED ANATOMO-PATOLOGICO

Estratto dall'«Archivio Italiano di Chirurgia»

Volume I, Fasc. 4.^o - 1920



:: ::

BOLOGNA - L. CAPPELLI, EDITORE

:: ::



11. A. 284

TIPI
DEGLI STABILIMENTI POLIGRAFICI RIUNITI
DI BOLOGNA

19935/4

JAN 23 1924

Infezioni gassose

STUDIO CLINICO, BACTERIOLOGICO, SPERIMENTALE ED ANATOMO-PATOLOGICO

Prof. PAOLO FIORI

Il materiale del presente lavoro fu da me raccolto sui vari fronti ⁽¹⁾ della guerra italo-austriaca, dal novembre 1915 al dicembre 1917, in Unità sanitarie di prima linea. Dal gennaio 1918 ad oggi lo studio fu proseguito in questo Istituto, colla aggiunta di una nuova osservazione.

Nel dicembre 1916, per invito del Comando, consegnavo alla Direzione di Sanità della 3.^a Armata una breve relazione ed in pari tempo redigevo una succinta pubblicazione a stampa, d'indole specialmente bacteriologica ⁽²⁾.

I casi di ferite di guerra furono 85; di essi 68 soltanto furono completamente studiati ed a questi sarà limitata la descrizione.

Nel gennaio 1918 mi si presentò l'opportunità di una nuova osservazione: in totale, quindi, i casi studiati sommano a 69.

PARTE I.

RIASSUNTO CLINICO E NOZIONI ANATOMO-PATOLOGICHE.

Prima di inoltrarmi nella trattazione dell'argomento che più d'avvicino riguarda il carattere di questo lavoro, accennerò ad un concetto fondamentale.

(1) Fronte trentino occidentale, altipiani, ed in particolar guisa il fronte carsico; fronte del Piave.

(2) *Policlínico* - Sez. pratica - marzo 1917.

Le classificazioni delle forme gassose, e, più precisamente, di quella che con terminologia oggi meglio accetta viene designata come gangrena gassosa, sono numerosissime ⁽¹⁾. Ma mentre per un lato si addivenne a divisioni e suddivisioni cliniche, spesso con equivalenti anatomo-patologici speciosamente schematizzati, si trascurò con frequenza dall'altro di approfondire la base batteriologica, quando questa non fu del tutto trascurata.

Come inevitabile conseguenza ne derivò il conglobamento non solo di forme eziologicamente distinte, ma, quel che è più, di quadri batteriologicamente fra i più disparati. Non altrimenti che in tal modo sono spiegabili le statistiche di gangrena gassosa col 100 % di guarigioni (QUENU, SEEFISCH) e l'esaltamento di procedimenti chirurgici e di applicazioni medicamentose, quali presidi di miracolosa efficacia.

Il laboratorio oggi sta mettendo in luce molte cause di errore, ammonendoci, anzi tutto, che di fronte ad anaerobi per sè stessi altamente patogeni, e, come tali, nocivi all'organismo anche senza il concorso dei comuni agenti delle infezioni chirurgiche, altri ne esistono, innocui per sè stessi all'organismo o capaci di effetti nocivi indiretti. I primi sono i veri agenti delle *infezioni edemo-gassose*, i secondi rappresentano la sovrapposizione a germi di comuni processi settici, di varia virulenza, capaci di riprodurre quadri che talvolta, in una osservazione incompleta, possono essere equivocati con quelli delle vere forme gassose, presentando di queste gli attributi più grossolani, cioè il gas, talvolta l'edema, sempre o quasi sempre lo sfacelo dei tessuti.

A questa concezione contrasta alquanto l'opinione di coloro i quali ritengono i germi delle infezioni gassose come saprofiti abituali, capaci di virulentarsi in adatte condizioni. Senza voler pregiudicare tale questione che, del resto, non può essere limitata a questo campo della batteriologia, osserviamo che l'esperienza odierna dimostra per un identico anaerobio la capacità patogena conservata ed estrinsecabile attraverso il tempo e attraverso la serie di animali, con modalità tali che ci autorizzano a classificare il germe fondamentalmente tra i patogeni, senza voler negare con ciò che, per un complesso di circostanze,

(1) APERLO « La gangrena gassosa o enfisematica » - (Bologna, L. CAPPELLI), ne elenca 34.

esso possa perdere della sua patogenecità e comportarsi in determinate condizioni anche come saprofita.

Una prima necessità quindi si impone, quella di dividere le forme gassose in due categorie, e cioè:

1° - **Infezioni edemo-gassose classiche.**

2° - **Infezioni con associazioni gassose putride.**

Le prime sono costituite dalle infezioni gassose propriamente dette, includenti la gangrena ed il flemmone gassoso: possono presentare caratteri di putridità, ma quale esponente di consociazioni saprofitiche putrefacenti.

Le seconde rappresentano infezioni più o meno gravi da germi comuni, aerobi, con associazione di germi putrificanti, aerobi o anaerobi, dotati di capacità patogene incostanti o nulle: eccezionalmente si può parlare di vere infezioni putride, e cioè provocate da soli germi a ricambio putrefacente, aerobi o, il più spesso, anaerobi.

Tale divisione sovviene alla sentita necessità di una discriminazione clinica, anatomico-patologica e batteriologica di quadri apparentemente uniformi e ci prospetta due eventualità fondamentali: nell'una il fatto locale talora più appariscente, il gas, cioè, e l'edema, è legato alla presenza ed alla attività degli anaerobi patogeni; nell'altra, condizioni anatomico-patologiche che alle prime possono in qualche guisa avvicinarsi, sono sostenute da germi, nei riguardi biologici e patogenetici da quelli del tutto differenti.

I. Infezioni edemo-gassose.

Una suddivisione clinica netta non è possibile; ci è consentito però tracciare due tipi, dei quali, uno, rappresentato dalla forma pervenutaci attraverso le osservazioni di RENAULT, CHASSAIGNAC, SALLERON, MAISONNEUVE, PIROGOFF, BOTTINI, TERRILLON, KÖNIG, PONCET, sotto denominazioni diverse (*gangrena o intossicazione traumatica, erisipela bronzina, setticemia gangrenosa acuta, gangrena necrotica, invadente, gassosa, enfisema putrido, traumatico*); il termine di **gangrena gassosa** è quello oggi più comunemente adoperato, a significare due fatti non costanti, ma frequenti, la produzione di gas e la morte dei tessuti.

Il secondo tipo è rappresentato dal flemmone gassoso o gangrenoso, il quale clinicamente e batteriologicamente è meno nettamente definito del precedente, tanto che al suo riguardo numerose furono le discussioni, non sempre vantaggiose alla risoluzione dei problemi via via prospettati. La ragione di ciò sta nel fatto che, da un lato si volle talvolta omologare il flemmone, punto per punto, alla gangrena, mentre dall'altro si negò ogni legame di parentela fra i due quadri, specialmente nei riguardi batteriologici. Concezioni ambedue errate, poichè, se si può dimostrare che nei due tipi manca talora una equivalenza perfetta, sia nei riguardi della flora, che nella virulenza dei germi, non è men vero che molto spesso il substrato batterico del flemmone avvicina singolarmente quello della gangrena, presentando, come carattere differenziale, la presenza di associazioni aerobiche, spesso prevalenti, e l'attenuazione della flora anaerobica.

Riassunto dei principali fatti clinici ed anatomici. — Nella descrizione dei fenomeni locali si troverà rappresentato quel complesso di fatti che, secondo il nostro avviso, costituiscono gli anelli di un'unica catena, e non possono perciò, presi uno per uno, servire di base a suddivisioni cliniche ed a classificazioni anatomo-patologiche (¹).

Avvertiamo tuttavia che determinate manifestazioni locali trovano la corrispondenza, nella pluralità dei casi, in determinate specie patogene, come è dimostrabile sperimentalmente, sebbene i risultati del laboratorio non sieno per questo lato integralmente trasportabili nel campo clinico.

GANGRENA GASSOSA

1. Sintomatologia.

a) Fenomeni locali. — Possono venire distinti in due tipi dei quali uno rappresentato dall'*enfisema* e l'altro dall'*edema*; fra i due, stanno gradi intermedi, misti.

(¹) REVEL, basandosi sulle manifestazioni locali, distingue la gangrena gassosa in

a) g. g. a muscoli deliquescenti ed a erisipela bronzina;

b) g. g. a muscoli esuberanti ed erisipela gialla;

c) g. g. a forma classica;

d) g. g. a manifestazioni quasi esclusivamente cutanee.

Nel *primo tipo*, che in parte corrisponde alla *tumefazione maligna senza edema* di LARDENNOIS e BAUMEL, la cute riveste aspetti differenti, presentandosi ora pallida, con mazzette venose rossastre e flittene disseminate, di colorito giallo, giallo-bruno e piceo, ora verdastra o verde-bruna; in questa seconda eventualità, al taglio appare imbibita di sangue nerastro. Ad ognuna di queste varietà corrisponde un particolare stato del muscolo, del quale verremo dicendo in appresso.

La tumefazione della parte e dell'arto intero raggiunge talvolta gradi notevolissimi, il gas diventa sempre più abbondante e dall'arto può invadere anche il tronco (*enfisema sottocutaneo*). La diffusione del gas in superficie talvolta è tanto rapida ed evidente, da potersi seguire colla vista (CHALIER, TRIFFAUD, una osservazione nostra, nella quale in circa due ore il gas dalla radice della coscia destra si estese all'ascella corrispondente); talvolta però l'andamento è tanto rapido che la presenza di esso non è messa in evidenza se non dalle sezioni dei tessuti profondi, in seno ai quali il gas si è particolarmente formato (tessuto ed interstizi muscolari). A questi fatti predominanti altri se ne accompagnano, come, ad es., il raffreddamento progressivo, l'essiccamento dell'epidermide, e talvolta anche il distacco dei peli alla più leggera trazione.

Nel *secondo tipo* l'edema costituisce il fenomeno predominante, se non addirittura l'unico. La parte, e spesso l'intero arto, è enormemente aumentata in volume; sotto la cute, pallida, traspaiono le vene dilatate, in ampia rete arborescente.

SACQUÉPÉE ha voluto riportare questo tipo alla presenza di un germe, da lui descritto colla denominazione di *B. bellonensis*.

Secondo WEINBERG e SÉGUIN però, pur dovendosi accettare la esistenza di due tipi, a forma *enfisematosa* classica l'uno, a forma *edematosa o tossica* l'altro, non è conveniente nè rispondente a realtà una schematizzazione batteriologica, potendosi verificare il caso che uno stesso germe sia capace di provocare ora lesioni *enfisematizzanti*, ora *edemizzanti*, ora le une e le altre insieme. Torna male acconcio quindi concepire che ad un quadro anatomico e clinico debba costantemente corrispondere un determinato germe, e nel corso di questo studio non mancherà occasione di dimostrare come nelle lesioni sperimentali sia dato assodare l'esistenza di anelli di passaggio fra quadri originariamente differenti: SACQUÉPÉE stesso, del resto, nelle

successive descrizioni del quadro anatomico viene ad ammettere la possibilità di gradazioni, se non di quadri del tutto differenti, alle dipendenze di uno stesso germe.

È bene, ad ogni modo, che la distinzione fra i due tipi clinici sia manteputa, esistendo effettivamente, a lato del tipo enfisematoso classico, un altro, nel quale il colorito bianco avorio o bruno della cute, l'imponente edema duro (*gangrena bianca* di HULL, *edema gassoso maligno dei Chirurghi* di SACQUÉPÉE) imprime una fisionomia particolare al quadro clinico.

b) **Fenomeni generali.** — Quasi sempre di manifestazione precoce. Pressochè costante è la temperatura febbrile, di grado variabile; nei nostri casi oscillò fra 37°,8 e 40°,5: si può però osservare anche ipotermia precoce o, per lo meno, assenza di ogni rialzo (CONRADI e BIELING, ANDERSON e RICHARDSON). In talune circostanze tuttavia, manca un elemento di giudizio esatto, data la possibilità di concomitanti stati depressivi, legati al trauma.

Rialzi termici bruschi possono essere dovuti a metastasi. Uno dei nostri feriti, amputato 20 ore dopo il ferimento, al terzo medio della gamba destra, alla fine del secondo giorno presentava il moncone di amputazione aereato ed edematoso, con temperatura di 38,2: la sera del giorno susseguente si verificò un brusco rialzo a 39,2, accompagnato da intenso dolore alla regione glutea destra, dove simultaneamente si delineò una bozza voluminosa, fortemente aereata. La morte sopravvenne in 7.^a giornata e l'autopsia dimostrò la presenza di un focolaio profondo enfisematoso della regione glutea ⁽¹⁾.

La curva termica di consueto è a lievi remittenze mattutine, di rado intermittente, talvolta presenta tipo inverso (depressione serotina); il brivido eccezionalmente precede l'ascesa della temperatura.

Di considerevole importanza, lo stato del polso: già in stadi precoci si osserva con frequenza la sproporzione fra polso e temperatura e ciò particolarmente nei casi a decorso rapido: al polso frequente o frequentissimo si unisce quasi sempre una notevole ipotensione, in modo che in alcuni casi si può avere la scomparsa del polso radiale 12-14 ore prima della morte.

(¹) Vedi FIORI: Nota citata.

Le modificazioni del respiro sono pure caratteristiche; polipnea, talvolta respiro di CHEYNE-STOKES, imprimono al quadro clinico un andamento caratteristico; la dispnea talvolta è penosissima.

A questo gruppo di sintomi, altri fatti si aggiungono: l'irrequietudine è uno dei fenomeni che si osserva quasi costantemente e che può persistere fino all'esito letale; talvolta stato ansioso spiccato; l'infermo si lamenta di costrizione all'arto, accusandone la fasciatura; il più spesso trattasi di agitazione, senza causa precisabile; inoltre, stiramento dei lineamenti del viso, contratture tonico-cloniche dei muscoli mimici, pelle arida; dal corpo del ferito emana un odore *sui generis*. Coll'aggravarsi delle condizioni, le occhiaie si incavano, il naso si affila, la cute e le mucose, specialmente in taluni casi, sono giallastre o giallo-verdastre. Allo stato di agitazione succede il più delle volte uno stato apatico, talvolta euforico: in qualche caso tuttavia la morte sopraggiunge in pieno periodo agitato. Notevole a questo riguardo qualche osservazione di persistenza di strani atteggiamenti degli arti subito dopo morte (coscia in flessione quasi rigida sull'addome, braccio in abduzione).

Il sensorio si conserva quasi sempre libero.

Nei riguardi delle funzioni secretive, a notarsi la frequente albuminuria, qualche caso di emoglobinuria, e la presenza di acido glicuronico nelle urine (CLOGNE).

2. Fatti anatomici.

Cute. — Senza volere inquadrare le modificazioni cutanee entro limiti schematici, si può tuttavia raggrupparle in tipi.

Le modificazioni riguardano il colorito, che ora si presenta sotto aspetto della cosiddetta *erisipela gialla* (tinta giallastra a contorni irregolari, placche rameiche di varia tonalità), ora è verdastro o verde-bruno, con decrescenza di tono mano mano che ci si allontana dalla ferita, ora è marmorizzato o bianco avorio (*erisipela bianca*); le due prime modificazioni corrispondono abitualmente alle forme *enfisematose*, l'ultima, alla forma *edematosa*; tuttavia il colorito pallido può riscontrarsi anche nelle regioni di cute iperdistese da gas.

A queste modificazioni si accompagnano spesso macchie violacee, flittene di volume vario, aree di desquamazione epider-

mica e, specialmente nelle forme enfisematose con erisipela gialla, uno stato di particolare secchezza dei tegumenti.

Nelle vescicole è contenuto liquido più o meno ematico, più raramente pallido o quasi incolore (forma edematosa classica); incise, lasciano vedere a nudo lo strato papillare violaceo, talvolta sanguinante, tal'altra esangue.

All'incisione, la cute presentasi ora asciutta, assottigliata ed aereata, con piccoli coaguli intra-dermici, ora imbibita di liquido che, da roseo, siero-ematico, può giungere fino al colorito verde cupo, ora infine fortemente succulenta-inspessita, pallida, imbibita di considerevole quantità di liquido, che cola dalla superficie di taglio.

A lato di tali modificazioni che si riscontrano con qualche variante nelle forme di gangrena gassosa grave, altre ne stanno nelle quali le lesioni paiono limitate esclusivamente alla cute; sono quelle che comunemente vengono designate come *erisipela bronzina* e che per consueto accompagnano stati enfisematosi, interessanti soltanto la cute ed il cellulare sottocutaneo. REVEL le denomina semplicemente *forme erisipelatose* e le considera come espressione di forme ad evoluzione benigna. Da rilevarsi però che queste modificazioni della cute possono trovarsi anche come fatto predominante nella forma diffusa a decorso mortale.

Cellulare sottocutaneo. — Presenta variazioni di colorito e di spessore; per lo più pallido, esangue, leggermente inspessito; talvolta invece più roseo del normale, infiltrato di liquido e notevolmente aumentato; vene talvolta trombizzate, con trombo aereato. Il liquido di edema, varia d'aspetto, consistenza, quantità; ora sieroso, incolore, ora siero-emorragico, ora gelatinoso, più o meno roseo; in taluni casi è tanto abbondante da colare incessantemente dalle incisioni e da imbeverare non solo il materiale di medicatura, ma anche le biancherie del letto. Questi fatti, spiccati nelle vicinanze della ferita, possono presentarsi molto pronunciati anche a distanza notevole. Il liquido di edema è spesso commisto a bollicine di gas.

Aponevrosi. — Per lo più poco modificata nelle forme enfisematose col tipo di erisipela gialla; quasi sempre succulenta e talvolta sibrillata nelle forme edematose, specialmente in vicinanza della ferita.

Muscoli. — Offrono modificazioni importanti per colorito, volume, consistenza. Possono essere nerastri, aereati, soffici, come

in un caso di nostra osservazione di forma enfisematosa classica; i muscoli della faccia anteriore della coscia destra si offrivano sotto aspetto caratteristico, quasi di un coagulo sanguigno in via di essicarsi. Altra volta, hanno colore di *foglia morta*, di *carne lessa*, sono aereati, crepitanti, notevolmente aumentati in volume, tanto che all'incisione dell'aponevrosi essi protrudono in modo molto considerevole tra le labbra dell'incisione; di consistenza diminuita, per lo più asciutti o scarsamente succulenti, si spappolano sotto la pressione delle pinze; qua e là presentano zone ecchimotiche scure o verdastre.

Queste modificazioni molto evidenti in vicinanza della ferita si attenuano a distanza, conservando però il carattere fondamentale che è quello dell'aereazione e del colorito pallido. Non esiste miolisi.

In altri casi, il tessuto muscolare, verdastro e verde-bruno, ecchimotico, aereato, è spappolabile alla più leggera pressione della pinza, nuota in un liquido ematico e presenta evidenti fatti di *miolisi*, che, pronunciatissimi in vicinanza della ferita, degradano colla lontananza. Tali modificazioni muscolari corrispondono agli stati *enfisematici* con cute verde o verde-bruna.

Altre volte, infine, e particolarmente nei casi di *erisipela bianca*, il muscolo, edematoso, pallido, grigio-sporco, duro al taglio, poco o punto aereato, immerso in un liquido abbondante, o lievemente roseo, gelatinoso, offre l'aspetto della carne perfrigerata (*frutto candito*, CAMERA).

Secondo SACQUÉPÉE, questo stato si riscontrerebbe nelle infezioni determinate dal *B. bellonensis*; WEINBERG e SÉGUIN descrivono uno stato analogo in casi di ferite, dalle quali essi isolarono il *B. oedematiens* ed anche il *B. perfringens*.

Vedremo in seguito come consimili osservazioni possano venir stabilite anche per germi del gruppo del *vibrione* (forma tossica). Le alterazioni muscolari sono di grado notevole, e quantunque esse non costituiscano un elemento indispensabile allo impianto e all'evoluzione del processo, debbono tuttavia venire considerate tra gli esponenti patogenetici di maggior valore. Il tessuto muscolare, specialmente se leso e compromesso nella sua vitalità, è un ottimo terreno nutritivo per gli anaerobi (*chambre d'attrition* di OMBREDANNE), in causa della sua ricchezza in glicogeno.

Delle modificazioni che può presentare il tessuto muscolare,

diremo più diffusamente a proposito dei reperti sperimentali: osserviamo qui che la fibra muscolare va incontro a processi anche acutissimi di degenerazione e che con molta frequenza si osserva la scomparsa della striatura trasversale e longitudinale, il rigonfiamento del protoplasma, la omogeneizzazione e la frammentazione della fibra (FLESSING); secondo LEGROS si può avere la degenerazione *cerea* acuta. Vedremo come la degenerazione *ialina* della fibra muscolare, con esito in necrosi, sia uno dei fatti meglio caratteristici.

Vasi. — In superficie le vene, piccole e medie, non raramente sono trombizzate; all'arto inferiore la grande safena in corrispondenza della coscia (1 volta), le vene della gamba (5 volte), all'arto superiore la mediana basilica (1 volta), furono da me trovate trombizzate; due volte il trombo presentavasi aereato; la presenza di bollicine di gas nell'interno del vaso però, ammessa da parecchi, non è accettata da altri (CHALIER); APERLO l'avrebbe invece osservata, *in vivo*, anche a distanza dal focolaio.

Scheletro. — Astrazione fatta dalle eventuali lesioni traumatiche, il periostio può presentarsi scollato e necrosato; nei casi di frattura di ossa lunghe il midollo centrale è variamente interessato; non sempre però riesce agevole prescindere dalle condizioni concomitanti, nella valutazione del fatto specifico. Tra noi PEREZ è assertore convinto della patogenesi ossea del processo gangrenoso, il quale esordirebbe sempre o quasi sempre con lesioni ossee e periostee: FORNI, sulla scorta dei diligenti reperti di autopsia, rilevati sotto la direzione del DIONISI a S. Giorgio di Nogaro, è pure condotto ad assegnare notevole importanza alla lesioni ossee; CANELLI esprime concetti analoghi. Altri invece (in Italia ed all'estero) escludono o riducono al minimo la compartecipazione dello scheletro al processo morboso. Le nostre osservazioni porterebbero ad ammettere che il periostio è talvolta necrosato e che il midollo può partecipare al processo.

Sangue. — Emolisi quasi sempre spiccata, diminuzione talvolta notevolissima dei globuli rossi, fino a 1,300,000 (E. RITTER) ed a 1,000,000 (FLESSINGER e MEYER); *anisocitosi*, *poichilocitosi*, *policromatofilia*, emazie spesso o, secondo RITTER, costantemente *nucleate*; eccezionalmente, normoblasti con granulazioni basofile. Secondo alcuni AA., esiste costante *leucocitosi*, talvolta fino a 100,000; e polinucleosi (87 %).

L' *eosinofilia*, abitualmente assente, sarebbe presente nella convalescenza, assieme alla linfocitosi (RITTER); inoltre, vi è re-per-to abbastanza frequente di mielociti, meta-mielociti, cellule di TURCK; discretamente frequenti i *mielociti granulosi* (FLESSINGER e MEYER).

3. Metastasi.

Fu già accennato al caso di metastasi osservato in uno dei nostri feriti: aggiungiamo qui i particolari del caso.

Trattavasi di un soldato nel quale, per una quasi completa avulsione del piede destro, da colpo di granata, era stata praticata in 20^a ora l'amputazione della gamba al 3° medio. In questo paziente esisteva inoltre una ferita delle parti molli in corrispondenza della faccia plantare della 3^a articolazione metatarso-falangea del piede sinistro, il quale, al momento in cui fu eseguita l'amputazione della gamba destra, presentavasi lievemente pallido, meno caldo ed alquanto tumido. La piccola ferita venne accuratamente aperta e cauterizzata: in 3^a giornata le condizioni del piede mantenevansi pressochè immutate ed il fatto più saliente era rappresentato dal colorito pallido del dorso e da lieve succulenza dei tessuti in corrispondenza della regione dorsale dell'avampiede. Alla sera dello stesso giorno il ferito accenna dolore alla natica destra, che in breve si fa tumida e di consistenza elastica, rosso-scura; questi fatti sono accompagnati da rialzo termico a 39°₂. Il giorno appresso il piede è tumido, verdastro, freddo; sul dorso della gamba, tanto a destra che a sinistra, appaiono strie verdastre, macchie livide ed edema. La bozza della natica è fortemente aumentata, dolentissima ed aereata.

Il ferito muore in settima giornata. L'autopsia mette in rilievo, a destra un focolaio enfisematoso-emorragico fra lo scheletro del femore, all'altezza del 3° superiore, e le masse muscolari postero-interne, costituite dagli adduttori, poco modificate nell'aspetto e consistenza; il focolaio non era stato sospettato in vita. A livello della natica destra, a ridosso dello scheletro, una vasta zona di tessuto rosso-scu-ro, aereato, che richiama singolarmente l'aspetto della carne bovina affetta da *e. sintomatico*; il gas che fuoriesce è commisto a sierosità sanguinolenta, nerastra.

In corrispondenza del dorso del piede e della gamba sinistra, tessuti di colore verdastro-scu-ro, edematosi, poco aereati; nel sottocutaneo e nei muscoli del gruppo antero-esterno della gamba, zone di sfacelo. La regione posteriore della gamba invece è tesa e più distintamente aereata: le masse muscolari sono crepitanti e poco o punto edematose.

WELCH nel 1900 riportava tre casi di metastasi da *B. perfringens*; nel corso della guerra si aggiunsero in casi di PAYR, RUPP, HANASIEWICZ, RANFT, MARQUART; JACOBSON, HEYDLER, HARTLEY, TAYLOR, VOGEL, KEHL, SIEGERT ⁽¹⁾ WIETING; notevole

(1) Nei riguardi della metastasi, confrontare specialmente questi due A. A. (*Deut. Zeit. f. Chirurgie* - 1917).

in tutti questi casi la frequenza della localizzazione metastasica alla natica, che TAYLOR spiega colla influenza esercitata dal decubito. Tale spiegazione può forse adattarsi anche ai casi di localizzazione primitiva al dorso o alla natica, nei casi nei quali l'infezione fu presunta di origine intestinale (casi di infezione gassosa *ab ingestis*).

Nella maggior parte dei casi, fatti oggetto di ricerche batteriologiche, fu considerato il *B. perfringens* quale agente della metastasi; nel caso mio trattavasi di un germe mobile, anaerobio, sporigeno, isolato in cultura pura, insemenzando terreni liquidi e solidi con materiale tolto in vita mediante puntura esplorativa del focolaio. Questo identico germe fu isolato anche dal fegato, che all'atto dell'autopsia (9 ore dopo la morte) presentavasi fortemente aereato, dalla milza, dal rene, dal sangue del cuore.

Reperti di autopsia. — La necropsopia fu eseguita in 11 dei nostri casi; *due volte* soltanto però in modo completo; nove volte fu limitata ai visceri toraco-addominali. Otto volte fu quasi immediata (5'-15' dal decesso); tre, fu eseguita 7 e 9 ore dopo. Nei casi di necropsopia precoce, il reperto fu presso a poco costante; miocardio flaccido, pericardio con liquido torbido, in un caso lievemente rossigno; polmoni talvolta con zone circoscritte di epatizzazione, scuri, lieve quantità di liquido nelle pleure.

Nell'addome, milza fortemente aumentata in volume, rosso-scura, talvolta nero-picea, molle al taglio; fegato pallido, aumentato in volume, qualche volta con aree scure ed emorragie sotto-capsulari.

Intestino ora meteorico, ora afflosciato, spesso iperdisteso; gangli mesenterici ingrossati, rosei. Nel cavo peritoneale, scarso liquido incolore.

Reni. — Fortissimamente congesti, con sostanza midollare edematosa; in un caso, raccolta di liquido molto torbido corpuscolato nei bacinetti. Le capsule surrenali richiamano l'attenzione per la quasi costante iperemia; sulle alterazioni di esse ritorneremo in appresso.

Vescica quasi sempre vuota.

Sistema nervoso. — ANDERS descrisse alcune alterazioni, osservate in cadaveri di feriti deceduti dopo 2-3 giorni di malattia; l'autopsia era stata eseguita 1-2 ore dopo; questi fatti consistono:

Cervello. — Iperemia specialmente della pia, corteccia livida, edema. Istologicamente: granulazioni di NISSL distrutte, fibrille arrotolate a spirale o frammentate.

Midollo. — Infiltrazione di cellule ameboidi attorno ai vasi, fatti di distruzione di tessuto. F. FRÄNKEL e WOHLWILL, controllando nella cavia, morta in 24-48 ore per infezione gassosa da *perfringens*, non trovarono nè edema nè iperemia, solo qualche cellula delle corna anteriori degenerata ed una infiltrazione interstiziale dei centri nervosi per cellule ameboidi: nessun fatto di *neuronofagia*.

Nei due casi di autopsia completa, io rilevai: una volta, encefalo aumentato di volume in massa, ventricoli ed acquedotto di Silvio considerevolmente distesi da liquido; corteccia cerebrale pallida, con vene della superficie dilatate; nel cavo meningeo, poche gocce di liquido sieroso.

Nei tre casi di necroscopia tardiva, una sola volta trovai le note dei visceri schiumosi; *fegato* giallo-paglierino, molle, aumentato fortemente in volume, soffice e crepitante al taglio; nell'addome, liquido torbido, sanguinolento, numerose bollicine di gas; *milza* sbiadita, aumentata in volume, asciutta alla superficie di sezione, fortemente aereata; *reni* scuri, imbibiti di siero sanguinolento, gassosi; *cuore* a coaguli, con bolle di gas, nel ventricolo destro; *polmoni*: zone di epatizzazione rosso-scure nei lobi inferiori, enfisema sottopleurico. Questo cadavere apparteneva al ferito che aveva presentata la metastasi gassosa alla natica destra ed era deceduto in 7^a giornata: a livello dei muscoli della coscia e più precisamente tra scheletro ed attacco del muscolo medio-adduttore esistevano bollicine di gas e scarsa quantità di liquido sanguinolento; i muscoli della natica destra presentavansi spappolati, grigiastri e fortemente aereati.

Tale reperto si riallaccia alla discussa eventualità della produzione di gas negli organi interni.

La possibilità di una formazione di gas nel sangue circolante fu già presa in esame da CLESS nel 1854, il quale, dopo avere discusso sui casi di MORGAGNI e di VESALIO, ritenne che la produzione di gas *in vivo* fosse possibile e che ad essa si dovessero riportare casi di morte improvvisa, per arresto di bolle d'aria nel ventricolo destro, in individui colpiti da processi gassosi. CLESS chiamò tale stato col nome di *pneumatemia*. Con questo A. convennero, nell'attribuire alla formazione di gas il

significato di *processo vitale*, per parte di germi circolanti nel sangue, molti ricercatori, quali TRUST, GOEBEL, DUDAY, HOLTZ, MILIAN, DEMETIN e LÉTIENNE, HINTZE, HEIDENREICH, KERCHENSTEINER, SIEMELING, UFFENHEIMER, UMBER, WELCH e NUTTAL, WELCH e FLEXNER, WILLIAM, REULING ed HERRING, HOWARD e CLEVELAND, DUNHAM, DOBLIN. Per tutti questi AA. già durante la vita, per azione dei germi gassogeni circolanti vengono a determinarsi lesioni parenchimali, alla quali dopo morte si accoppia la produzione di gas. I germi capaci di determinare un tale stato di cose sarebbero il *B. Coli*, il B. di WELCH-ERNST, poi identificato col B. di FRÄNKEL, il *B. dell' edema maligno*, il *proteo volgare* di HAUSER, il *B. enfisematis maligni* di WICKLEIN ed il *B. aerofilo* di UFFENHEIMER.

La maggior parte degli AA. però rigetta la possibilità di gas negli organi viventi e WESTENHOFFER, andando anche più oltre, conclude le sue osservazioni col dire che l'organo schiumoso è un processo cadaverico non solo, ma che anche la necrosi, eventualmente riscontrata nei parenchimi e specialmente nel fegato, non deve considerarsi quale processo vitale, ma ricondursi ad una semplice incolorabilità dei nuclei.

PICCHI invece, prendendo occasione da un primo reperto di autopsia di BANTI e da altri successivi suoi personali, in casi di infezione gassosa da *B. perfringens*, è condotto ad affermare che il *B. di FRÄNKEL* può dare in vita gas nei visceri, e che la produzione del gas, quale fenomeno vitale, è dimostrata da alterazioni istologiche, sotto forma di vacuolizzazione e degenerazione grassa della cellula epatica, con disfacimento granulare del nucleo. L' A. inoltre, inoculando coltura pura di *B. perfringens* nelle vene dell' ala del piccione ed eseguendo l'autopsia immediatamente dopo la morte dell' animale, constatò l'esistenza di organi schiumosi. Ne conclude: 1.° che la penetrazione del germe nel sangue vivente porta con frequenza a lesioni necrotiche parenchimali, che invece mancano nei casi nei quali il germe arriva ai visceri soltanto dopo morte; 2.° che l'organo schiumoso può già sussistere in vita. Anche FRÄNKEL ammette che le alterazioni necrotiche sono proprie degli organi *viventi*.

CANELLI riferisce pure il caso di un reperto di autopsia con fegato schiumoso, ma non riporta la data dell'autopsia.

I risultati delle autopsie da me eseguite fanno ritenere che l'evenienza di organi schiumosi in vita, se pure esiste, deve

essere molto rara. Negli otto casi di autopsia precoce io mai ebbi a riscontrare visceri parenchimali aereati; invece, in due dei tre casi di autopsia tardiva (7-9 ore) trovai il fegato e, in minor grado, la milza tipicamente schiumosi. In uno di questi casi, che si riferisce alla osservazione del ferito con metastasi alla natica destra, il fegato era enormemente aumentato in volume, giallo-pallido, soffice e crepitante al taglio, come tessuto polmonare: pure la milza presentavasi considerevolmente aereata; nel sangue fu isolato un bacillo mobile, sporigeno, patogeno per la cavia e pel coniglio; nel fegato, oltre questo bacillo, fu isolato anche un putrido, del gruppo del *putrificus*. Nel 2.^o caso dal sangue fu isolato il *perfringens* ed uno *streptococco*; il fegato presentavasi considerevolmente aereato; molto meno, la milza. Nel 3.^o caso, nel quale l'autopsia fu eseguita a 7 ore di distanza dalla morte, non riscontrai areazione dei visceri. Dovrebbersi dedurre che effettivamente nell'uomo la produzione di gas nei visceri parenchimali è processo cadaverico e questo concetto risulta anche confermato dalle osservazioni di CONRADI; la generalizzazione del germe tuttavia è un fatto in gran parte vitale.

D'altra parte, mi è risultato di facile constatazione il fatto di riuscire a riprodurre fegato tipicamente schiumoso nella cavia inoculata con germi gassogeni e tra questi il *C. sintomatico* I^o, quando l'animale, che all'atto dell'autopsia immediata non presentava aereazione di visceri, venne mantenuto 24 ore a 37°: il fegato acquista in tal caso tutti i caratteri del viscere schiumoso e dà l'impressione, sì al taglio che al tatto, di tessuto polmonare; è però più friabile di quest'ultimo.

* * *

Il quadro clinico ed anatomico riassunto tende a dare un'idea, il più possibilmente approssimativa, del come le cose si svolgono: in sostanza, due sono gli aspetti che abitualmente la forma può assumere: quello dell'*enfisema* da un lato, quello dell'*edema* dall'altro. Esponente dell'uno o dell'altro può essere una determinata specie di germi, se, come non di frequente osservasi, trattasi di flora monoanaerobica; a seconda del predominio dell'uno o dell'altro germe, può aversi l'uno o l'altro dei quadri, senza dimenticare tuttavia:

1. - che una stessa specie è capace di determinare ora i

quadro enfisematoso (forma gassosa classica), ora l'edematoso (forma tossica-*perfringens*, *vibrione settico*);

2. - che due diverse specie possono, ognuna per conto proprio, dar luogo ad un quadro misto, coi tipo edemo-gassoso: eventualità tutt'altro che infrequente a verificarsi, la quale impartisce alla fenomenologia locale un carattere più complesso.

Non bisogna dimenticare, infine, che alla flora anaerobica patogena un'altra se ne può aggiungere, quella di anaerobi od aerobi putrefacenti (*B. putrificus*, *B. sporogeno*, *B. proteus* ecc.) abitualmente non patogena, che provoca dalla ferita l'emana- zione di odore nauseante, troppo spesso ritenuto quale sintomo patognomonico di infezione gassosa, invece che l'espressione di una associazione di saprofiti putrificanti: su questa eventualità avremo presto occasione di ritornare.

FLEMMONE GASSOSO

1. Sintomatologia.

a) **Fatti locali.** — Sono specialmente caratterizzati da fenomeni infiammatori e da necrosi dei tessuti (flemmone gangrenoso). Alterazioni di colorito della cute, presenza di vescicole, enfisema, edemi localizzati anche qui sono presenti, ma in modo considerevolmente meno pronunciato: su tali alterazioni prendono il sopravvento quelle legate alla presenza di germi piogeni, con formazione, quindi, di raccolte purulente, talvolta molto estese e tali da disseccare le masse muscolari dallo scheletro. In un caso di nostra osservazione la gamba destra, fortemente aumentata in volume, con cute tesa, arrossata, calda, con macchie violacee disseminate ed aree di enfisema sottocutaneo ben manifesto, all'atto dello sbrigliamento presentava i muscoli sbiaditi, deliquescenti, con infiltrazione purulenta inter ed intra-fascicolare: lo scheletro della gamba restò nel corso di pochi giorni pressochè denudato: la forma però fu arrestata senza intervento demolitore. L'esame batteriologico mise in evidenza la presenza del *perfringens* e di uno *streptococco*.

b) **Fenomeni generali.** — Questi risentono della presenza costante, nei tessuti della ferita, dei comuni germi piogeni, i quali esplicano un'azione predominante; temperatura elevata, a tipo remittente o sub-remittente, il più spesso preceduta da

brivido e susseguita da sudore, polso frequente, ma per lo più valido e sostenuto, ed in relazione alla temperatura: modificazioni respiratorie meno accentuate o soltanto delineate nei casi molto gravi. Si osserva però con frequenza colorazione subitica e fatti di emolisi; albuminuria di lieve grado od assente.

Nei casi ad andamento grave o letale parecchi dei sintomi già rilevati a proposito della gangrena, complicano anche qui il quadro e specialmente colpisce la dissociazione tra polso e temperatura. Nel caso di nostra osservazione, finito colla morte, ai fenomeni suppurativi eransi rapidamente e bruscamente sovrapposti fatti di enfisema sottocutaneo accentuatissimi e di edema del piano muscolare profondo della coscia sinistra. In coincidenza di tali modificazioni del quadro locale (9° giorno) insorse impressionante polipnea, stato ansioso, agitazione: la morte sopravvenne in 18ª giornata, con un quadro pressochè identico a quello della gangrena.

2.° Fatti anatomici.

Come sopra si è accennato, il quadro è, di consueto, prevalentemente caratterizzato dalla infiltrazione purulenta, col tipo il più spesso segmentario, tanto che l'intera sezione di un arto può presentarsi colpita.

La cute, arrossata, con chiazze rameiche e vescicole, offre l'aspetto delle forme infiammatorie: distesa da gas per larghi tratti, alternati con zone edematose: vene sottocutanee pronunciate. Nel cellulare sotto-cutaneo gas in varia quantità, con liquido corpuscolato o purulento: aponevrosi sfibrillate, grigie: muscoli grigio sporchi, ora aereati ora edematosi, con focolai necrotici e purulenti intrafascicolari. Nei setti intermuscolari liquido purulento per lo più tenace: i ventri muscolari frequentemente si presentano scollati dalla aponevrosi di involucro e distaccati dallo scheletro. Periostio necrotico, colore ardesia.

In qualche caso tali fatti necrobiotici profondi si accompagnano a larghi scollamenti gassosi superficiali: la cute, tesa e risonante, presenta allora il carattere della *erisipela gialla*, o più frequentemente, dell' *erisipela bronzina*.

Tale, in riassunto, il complesso dei fenomeni clinici ed anatomici di questa forma, nella quale evidentemente ai caratteri di una infezione gassosa limitata si accompagnano quelli della

infezione piogena predominante e per lo più sostenuta dallo streptococco.

Un aggravamento della forma per parte della flora anaerobia, coesistente ai piogeni, non esce dal campo delle possibilità e nel caso da noi osservato, a decorso letale, il ferito venne a morte in 18° giornata col quadro della gangrena gassosa tardiva, dopo aver presentato in primo tempo le note di un processo misto, sostenuto dai germi della suppurazione, in prima linea lo *streptococco* e da un anaerobio patogeno, coi caratteri del *B. perfringens*.

In questo ferito, l'emocultura *in vivo*, era risultata negativa 18 ore avanti la morte. Dal sangue del cuore del cadavere fu isolato il *B. perfringens* e lo *streptococco*. Nel rene sinistro si rilevò l'esistenza di una raccolta purulenta del bacinetto. Nel fegato, fatti avanzati di degenerazione grassa.

A lato del flemmone, credo non dover dimenticare un'altra entità, non rarissima a riscontrarsi, *l'ascesso gassoso o flemmone gassoso circoscritto*.

II. Infezioni con associazioni putride.

L'esame batteriologico, tanto del sangue come dei tessuti, mi ha permesso di raccogliere in un gruppo a parte alcuni casi, nei quali l'esame clinico da solo poteva lasciare in dubbio sulla vera essenza del processo. Io ho raggruppato 13 osservazioni, le quali offrirono una sintomatologia, degna, sotto parecchi punti di vista, di figurare accanto alle vere infezioni gassose. In 12 di questi casi trattavasi di gravissimi traumatismi ora delle parti molli (regione glutea, perineale), ora dello scheletro e delle articolazioni (ossa dell'avambraccio, della gamba, del piede, del ginocchio); il 13° si riferisce ad una frattura esposta dell'avambraccio destro, con gangrena dell'arto, conseguente ad apparecchio gessato. In quest'ultimo caso ed in tre dei primi fu eseguito un intervento demolitore (amputazione del braccio al 3° medio) (1 volta) e della coscia al 3° inferiore e medio (3 volte). Nessun esito letale ebbe a lamentarsi, la guarigione tenne dietro rapidissima agli interventi demolitori; fu più tarda, ma completa, nei casi restanti.

1. Sindrome clinica.

a) **Fenomeni locali.** — Consistono quasi esclusivamente in fatti putridi, che si stabiliscono rapidamente sopra tessuti per larga estensione e profondità mortificati o dal trauma o dalla soppressione del circolo sanguigno, per lesione dei grossi vasi.

In alcuni casi l'inizio è segnalato dallo stabilirsi di fenomeni infiammatori piogeni, con note di infiltrazione dei tegumenti (arrossamento, dolore e tumefazione della ferita).

Su questa base si impianta un processo secondario, caratterizzato dalla necrosi e dall'icore.

Altre volte invece le note della comune infiammazione sfuggono o sono poco accentuate, mentre invece risaltano e predominano i fenomeni legati alla mortificazione e decomposizione dei tessuti. Il quadro allora, fino dal primo o dal secondo giorno, si presenta o col tipo enfisematoso puro o con quello misto, edemo-enfisematoso. L'enfisema interessa il sottocutaneo e gli spazi intermuscolari, più raramente, e solo nei casi avanzati, la compagine del muscolo: è accompagnato da liquido icoroso, più o meno corpuscolato, fluido, nerastro, fetido.

Il gas distende la cute, che si presenta di colore verde cupo o bronzino, talvolta con macchie violacee, più raramente bianco-livide: in qualche caso, il colorito diventa nerastro, piceo. Larghe bolle, ripiene di liquido sanguinolento, sono variamente sparse, ma circoscritte alle vicinanze della ferita; talvolta esse mancano. L'epidermide può sfogliarsi in ampi tratti, lasciando allo scoperto il derma umido, rossastro. Nel sottocutaneo il liquido di edema è sanguinolento, scuro, misto a bolle di gas ed a goccioline di grasso: in profondità, è commisto ai prodotti di disfacimento del tessuto muscolare ed a materiale purulento.

Aponevrosi e muscoli presentano note di sfacelo; aponevrosi sfibrillata, muscoli molli, bruno-verdastri; l'osso, denudato di periostio, è grigio scuro, la cavità del midollo centrale (nel caso di fratture delle ossa lunghe) è ripiena di materiale mortificato, nerastro, fluido.

L'edema è quasi sempre notevole e con frequenza accompagna l'enfisema; esso non possiede una linea di demarcazione, ma degrada verso la parte sana: è un'edema succulento, senza quella particolare durezza che distingue l'edema della gangrena.

Questi fatti hanno come carattere costante quello di restare circoscritti al segmento dell'arto colpito e talvolta limitati in ristretto ambito. Come si scorge, in essi predominano i fenomeni di mortificazione e di decomposizione dei tessuti, tanto che talvolta dalla parte emana odore ammoniacale. Non mancano però i fenomeni della comune infezione piogena, che, come si disse, possono intonare l'inizio della forma e poi passare in seconda linea. Dalla virulenza dei germi piogeni dipende molto verosimilmente l'evoluzione clinica ed anatomica del processo, fino ad aversi quadri locali e generali impressionanti. Due dei dodici feriti da me osservati si segnarono per una speciale gravità dei fatti locali (uno, con frattura delle ossa della gamba da scheggia di granata, l'altro, con frattura e scoppio dei condili femorali da palletta di shrapnel), contrassegnati da *enfisema segmentario* imponente e da sfacelo putrido delle masse muscolari.

b) Fenomeni generali. — L'elevamento termico è di grado vario: l'andamento febbrile ora è intermittente, ora sub-continuo. La temperatura spesso insorge con brivido ed è seguita costantemente da sudore profuso. Il polso è frequente, ma quasi sempre abbastanza sostenuto: in taluni casi però può raggiungere una frequenza impressionante (120-125) e non proporzionata alla temperatura ($38^{\circ},2$): il respiro si mantiene per lo più regolare, nei casi più gravi però è superficiale, a tipo addominale.

Cute calda, umida, raramente arida, spesso terrea, arrossata agli zigomi; una tinta subitterica si può osservare nei casi più gravi.

Lineamenti del viso quasi sempre composti, stato rarissimamente ansioso; qualche agitazione transitoria è, per lo più, determinata da cause bene precisate (dolore alla parte).

Sensorio integro: qualche ottundimento solo negli stati febbrili elevati, cefalea, qualche nausea, anoressia marcata; soventi volte diarrea.

Oliguria frequente, talvolta albuminuria. In due casi furono osservate complicanze bronco-polmonari, rapidamente risoltesi.

2. Fatti anatomici.

Come sopra è ricordato, essi consistono prevalentemente in fenomeni di mortificazione dei tessuti, talvolta molto eccentruati. Cellulare sotto-cutaneo, aponevrosi e muscoli sono variamente ma costantemente compromessi; tessuto adiposo scuro-verdastro,

aponevrosi stibrillate, giallastre, muscoli deliquescenti, quasi sempre aereati: il gas, in piccole bolle, esce commisto ad icore, a brandelli di tessuto ed a gocce oleose: periostio, spesso scollato, e tumido, tessuto osseo qua e là con chiazze nerastre: midollo tomentoso, talvolta in dissoluzione.

Le parti, così alterate, sono bagnate da liquido icoroso, bruno, il più delle volte scorrevole; se coesiste associazione piogena marcata, il liquido può presentare carattere icoroso-purulento.

Il quadro anatomico-clinico da me riassunto può talvolta, come si disse, assurgere a gradi impressionanti, tanto da giustificare la possibilità di equivoci colle infezioni gassose classiche. Dei 12 feriti da me osservati, 5 si presentarono particolarmente gravi e precisamente uno con estesa asportazione delle parti molli della natica destra, uno con gravissima lesione del perineo, e tre rispettivamente con frattura dell'estremo superiore della tibia interessante l'articolazione del ginocchio, frattura comminutiva delle due ossa, spapolamento del piede con apertura dell'articolazione tibio-astragalica e lesione della tibiale anteriore. In questi cinque casi, le note edemo-enfisematose, a carattere putrido, si presentarono accentuatissime già nelle prime 24 ore dal ferimento: il decorso clinico ebbe momenti di gravissimo fastigio, sopra tutto per sintomi astenici generali: la guarigione però avvenne in tutti cinque i casi: in modo particolarmente sollecito, si avverò nei tre con lesione scheletrica, dopo la demolizione della parte.

Specialmente in questi cinque casi la possibilità, nella quale mi trovai, di controllare passo per passo l'evoluzione della forma, mediante ricerche batteriologiche ripetute giornalmente sui tessuti delle ferite e nel sangue del circolo generale, e per mezzo della prova biologica sulla cavia e su altri animali, che ebbi opportunità di procurarmi, mi fornirono elementi preziosi pel giudizio diagnostico.

PARTE II.

CAUSE E FATTORI DELLE INFEZIONI EDEMO-GASSOSE

Le ferite ed in genere i traumi, che comportano, da un lato, lesione dei tessuti, dall'altro, presenza ed attecchimento dei germi patogeni, rappresentano il momento abituale. Non mancano però osservazioni, le quali dimostrano la possibilità di

insorgenza dell'infezione anche per vie diverse da quelle dei comuni tegumenti: BRAATZ, MENEREUIL ad es. riportano casi di infezione mortale, con localizzazioni al dorso, alle natiche, in individui che avevano ingerito acqua inquinata o materie stercoracee: la via intestinale figura nei casi di PICCHI, di GHON e SACHS ecc.: nel 1907 infatti PICCHI riferiva due osservazioni di infezione gassosa da *perfringens*, nelle quali il punto di partenza doveva considerarsi, con verosomiglianza, rappresentato dall'intestino (alterazione della parete intestinale in due casi di ernia strozzata). Nel corso della guerra furono osservati casi di infezione edemo-gassosa della parete addominale a livello di fistole stercoracee, secondarie a ferite dell'intestino. Sono poi descritte localizzazioni primitive nell'utero da BRAATZ (1887), BREMEZ (1888), WESTENHOFER (1902), PICCHI (1907).

Le ferite, però, come si disse, rappresentano il momento abituale; esse, tuttavia, non debbono venire considerate a se, ma valutate in una al complesso di altre circostanze, che andiamo a riassumere e che sono rappresentate:

1°) *da condizioni estrinseche.*

2°) *da condizioni intrinseche.*

1.° Condizioni estrinseche.

Secondo alcuni (PAYER, FRANZ, VENNIN, GIRODE, HELLER, CATELLIER, OLIVA), il periodo invernale e quello delle piogge in genere coinciderebbero colle percentuali più alte di casi; secondo altri invece (CAVINA ed, in parte, SEEFISCH) sarebbe il periodo estivo maggiormente incriminabile. Astraendo dalla considerazione, che, come osserva CAVINA, il periodo estivo è in genere contrassegnato da maggiore attività bellica, è certo che le influenze atmosferiche possono essere importanti, come quelle capaci di creare alla superficie del corpo umano condizioni favorevoli all'attecchimento del germe (difficoltà di pulizia della cute, difficoltà di rinnovare gli indumenti, inquinamento con fango, con polvere ecc. ecc.): non è escluso poi che le condizioni climatiche (eccessivo freddo, caldo-umido) agiscano anche o diminuendo le resistenze organiche o esaltando la virulenza del microrganismo. Le modalità colle quali la grande guerra si è svolta sotto forma di guerra di posizione, hanno singolarmente accresciuto l'importanza del suolo, quale elemento di trasmissione dei germi ed in non pochi casi si è potuto dimostrare un vero

e proprio arricchimento del terreno in elementi microbici e tra questi dei germi specifici delle infezioni gassose.

Fra le cause predisponenti generali, ricordiamo tutte quelle che riguardano direttamente il ferito (shock, condizioni di debilitazione) e quelle che si riferiscono alle modalità di soccorso e di trasporto.

2.° Condizioni intrinseche.

Queste sono legate alla qualità dell'agente vulnerante, alla costituzione anatomica della parte, alle modalità del trauma, a fenomeni secondari diversi, e, in prima linea, alla presenza del germe.

a) *Qualità dell'agente vulnerante.* — Si ammette dalla generalità che il proiettile anfrattoso, irregolare, rappresenti il fattore traumatizzante tipico; in questa categoria entra il proiettile di artiglieria.

Effettivamente le statistiche si accordano su questo punto (LARDENNOIS e BAUMEL) e cioè che le scheggie di granata e le palette di shrapnel sono con maggiore frequenza incriminabili. Ma anche la pallottola di fucile o di mitragliatrice si è dimostrata capace di effetti analoghi ora direttamente ora col provocare traumatismi complessi (fratture da scoppio).

D'altra parte, lesioni di poca entità ed interessanti le sole parti molli possono diventare punto di partenza di infezioni a tipo galoppante. — I casi di gangrene gassose classiche insorte al seguito di iniezioni ipodermiche (PICCHI, FRÄNKEL) e di lesioni appena rilevabili a carico della cute (PACINOTTI ⁽¹⁾, TANSINI) stanno a dimostrarlo.

Sta di fatto però che le ferite anfrattuose, coinvolgenti maciullamento di tessuti, rappresentano una condizione di primo ordine.

b) *Entità del traumatismo.* — È, almeno in parte, una conseguenza di quanto precede: la mortificazione dei tessuti, conseguente all'insulto per parte di grosse scheggie, può già di per sé costituire la base per l'impianto del processo infettivo.

c) *Costituzione anatomica della parte e sede della ferita.* —

L'abbondanza delle masse muscolari è uno dei coefficienti invocati tra i fattori di più alta importanza, sì perchè il muscolo

⁽¹⁾ Nel caso di PACINOTTI sarebbe trattato di una infezione generalizzata per edema maligno a seguito di puntura di mignatta.

offre un ottimo substrato nutritivo agli anaerobi, sì perchè le anfrattuosità muscolari male si prestano alla deterzione ed al drenaggio. Ciò spiegherebbe la estrema rarità di localizzazione in parti povere di muscoli, ad es. la testa.

La vascolarizzazione rigogliosa rappresenterebbe un coefficiente sfavorevole allo sviluppo dell'infezione: ciò non toglie però che sianosi osservati anche casi frequenti di localizzazioni in regioni molto irrorate, come il collo e che in alcune statistiche gli arti superiori, più efficacemente nutriti e meno provvisti di muscoli che gli inferiori, figurino prevalentemente colpiti (DE-JARDIN - 49 casi agli arti superiori contro 24 agli inferiori). Sta di fatto però che la statistica globale depone per la preponderanza agli arti inferiori (LAPEYRE, LARDENNOIS e BAUMEL, CHALIER, OLIVA, CAMERA ecc.). CALÒ invoca la distribuzione del sistema vasale, che, ripetendo negli arti il tipo di sviluppo embrionale a gemmazione, offre un circolo anastomotico povero e quindi insufficiente a supplire, in determinati casi, al difetto di irrorazione. Inoltre, la conformazione degli arti, la compattezza dei tessuti che li compongono, i rapporti di intimo contatto che intercedono fra piano osseo e vasi in determinati segmenti dell'arto e che dispongono i vasi a facile insulto, sono altrettanti coefficienti favorevoli, secondo l'A., all'impianto del processo infettivo.

d) *Condizioni nelle quali il trauma si svolge.* — La qualità dei tessuti interessati e gli effetti che il trauma provoca, meritano speciali riguardi. All'uopo, giova considerare le lesioni dell'albero circolatorio, le lesioni muscolari, le lesioni ossee.

Le turbe circolatorie sono della massima importanza, come quelle che sottraggono alla parte il potere difensivo. Il circolo sanguigno può essere compromesso direttamente per effetto del trauma (lesioni della parete vasale) oppure per azione secondaria, esercitata da corpi, coi quali il vaso viene a trovarsi in contatto (scheggie metalliche, scheggie ossee); o per sopravvenienze settiche o per effetto di compressioni esercitate da gas, dall'edema (TAYLOR, CHALIER) ed in fine per atti chirurgici (legatura di vasi). Comunque il fatto si verifichi, gli effetti sono sempre più o meno dannosi, nè è necessaria l'interruzione totale e definitiva del circolo arterioso, poichè basta la sospensione transitoria o la sottrazione parziale, perchè si verifichino fenomeni di gravità impressionante. Il fatto, già noto nel campo sperimentale

per le ricerche di ARLOING, il quale aveva dimostrato la maggiore facilità di attecchimento e la gravità più considerevole delle lesioni, quando l'iniezione di coltura di *vibrione settico* viene abbinata alla legatura di un vaso importante della parte (ad es. arteria femorale), trovò presto conferma nel corso della guerra (influenza dannosa del laccio, degli apparecchi amidati, troppo stretti, sull'andamento delle ferite). La legatura di grossi tronchi arteriosi può essere seguita da fenomeni di infezione gassosa anche a distanza, talvolta molto notevole, dalla ferita. WEINBERG e SÉGUIN riportano parecchi casi interessanti di tal genere, in alcuni dei quali il controllo batteriologico, eseguito prima e dopo la legatura, dimostrò una modificazione della flora batterica nella ferita nel senso che, dopo la legatura, gli anaerobi patogeni presero un deciso sopravvento sui piogeni comuni. In uno di questi casi i fenomeni minacciosi insorsero tre giorni dopo la legatura della arteria tibiale posteriore, in un 2° caso, 30 giorni dopo la legatura della A. femorale, in un 3° caso 90 giorni dopo la legatura della poplitea. In quest'ultimo caso però si svilupparono germi poco patogeni (*aerofetido*, b. del gruppo del *B. antracoide*). Evidentemente questi casi presentano molta analogia colle osservazioni di quanto avviene nelle gangrene degli arti, al seguito di interruzione vascolare traumatica primitiva (osservazioni di LAPOINTE).

Notevole importanza hanno anche le lesioni dei tronchi venosi. L'ostacolo al deflusso del sangue crea condizioni particolarmente adatte allo sviluppo dei germi, sottraendo ossigeno e costituendo condizioni favorevoli alla devitalizzazione dei tessuti. Indirettamente l'ostacolo al circolo refluo può ripercuotersi sfavorevolmente sul circolo arterioso, col creare stati edematosi, che si oppongono al libero scorrimento del sangue nelle piccole arterie e l'*endoflebite* è segnalata quale uno dei fattori propizii allo sviluppo dell'infezione gassosa.

L'*interessamento delle masse muscolari* è la base sulla quale si impernia l'infezione gassosa; la ferita muscolare è tanto più pericolosa, quanto maggiore è la lacerazione e l'infiltrazione emorragica interfascicolare (*chambre d'attrition musculaire* di OMBREDANNE), la quale crea una condizione molto favorevole alla necrosi e quindi all'attecchimento degli anaerobi. Tale necrosi, secondo alcuni (HENRIE FIGUERA), sarebbe favorita anche dal contenuto in fosforo di alcuni proiettili di artiglieria.

L'importanza della lacerazione e della necrosi del muscolo è stata dimostrata anche sperimentalmente (v. HIBLER, TISSIER, VINCENT, STODEL), tanto che alcuni chirurghi hanno preconizzato, come trattamento profilattico, l'ampia escissione del tessuto muscolare a livello della ferita: pratica adottata in grande quantità dei nostri casi, anche nella eventualità di ferite muscolari a tunnel, nelle quali il tragitto del proiettile poteva essere seguito con qualche agevolezza (ferita transfossa del soleo, dei muscoli della coscia).

Le *lesioni ossee* non figurano quale concomitanza uniforme tra i momenti indiretti: nelle osservazioni di LARDENNOIS e BAUMEL il 76,5 % riguarda ferite senza frattura: CHALIER invece dà il 77 % di fratture scheggiate; presso a poco nell'identica guisa parlano le statistiche di F. IVENS.

Dei 13 casi di OLIVA soltanto sei erano accompagnati da lesione ossea. Delle mie osservazioni circa il 60 % decorse con fratture (scapola, osso d'avambraccio, coste, femore, ossa della gamba e del piede): non si può negare tuttavia che in una certa percentuale di casi la infezione non possa verificarsi anche a seguito di piccole ferite delle soli parti molli, come io stesso ebbi ad osservare (ferita della pianta del piede, ferita della natica da palletta di shrapnel). E che possa essere così lo dimostrano le esperienze dei casi, nei quali infezioni gassose a decorso mortale, o gravissime, si ebbero al seguito di semplici iniezioni ipodermiche (due casi di FRÄNKEL, due di GUILLEMONT e SAUPAULT, quattro di PICCHI), nei quali certamente non può invocarsi l'eccessivo traumatismo dei tessuti. D'altra parte è indubbio che specialmente la frattura scheggiata può essere causa di lesioni muscolari secondarie, le quali a loro volta costituiscono condizioni propizie per l'attecchimento e l'evoluzione degli anaerobi. Se a questo s'aggiunge la possibilità che scheggie ossee, agendo da proiettili secondari, trascinino con sè brandelli di vestito ed altri materiali inquinati, resta agevole assegnare ai traumatismi scheletrici un'alta importanza, senza notare che alcuni A. A. ritengono il midollo osseo una favorevole via di diffusione del germe (GRÉGOIRE e MONDOR).

e) *Condizioni diverse.* — CALÒ dà molta importanza all'aumento di tensione ed all'ostacolo nel deflusso del materiale di ferita, nei casi nei quali il tragitto è a fondo cieco oppure nella eventualità che i forami della ferita, di lievi proporzioni, ven-

gano otturati da sangue coagulato, da brandelli di tessuto, in modo da trasformare il tragitto in una cavità chiusa; ne deriva, secondo l'A., un ostacolo alla circolazione venosa, con conseguente ristagno e quindi lo stabilirsi di condizioni propizie all'insediarsi del processo gassoso.

Il fatto, se può accettarsi in determinate eventualità come ad es. nel caso di ferita delle estremità distali degli arti, ove un facile ostacolo al circolo sanguigno può venire provocato dall'accumularsi di liquido emorragico (ematomi, invocati da CHALIER, SACQUÉE, HEITZ-BOYER) non può però generalizzarsi, esistendo moltissimi esempi di infezioni gassose a decorso fulminante in ferite ampiamente aperte, come io stesso potei osservare in casi mortali con frattura di scapola e di coste, e ampia asportazione di parti molli. Il pericolo della cavità chiusa può forse venire meglio prospettato, se si considera che nel recesso del tragitto rimangono indisturbati quelli elementi che costituiscono il punto di partenza dell'infezione (brandelli di abiti, scheggie metalliche, sassi).

Menzioniamo infine l'influenza eventuale esercitata dalle lesioni di *tronchi nervosi* (CHALIER, VENNIN, GIRODE, HALLER) e da trattamenti inadeguati della ferita (drenaggi insufficienti, tamponamento soverchiamente stipato).

f) *Fattori bacterici*. — L'argomento è dei più complessi, essendo disparate le condizioni nelle quali siamo chiamati ad interpretare la parte che spetta al germe nella provocazione del fatto morboso.

Nelle ferite in genere e nelle gassose in ispecie il polimicrobismo costituisce, si può dire, la regola, il monomicrobismo, quasi l'eccezione: donde la difficoltà di valorizzare l'azione del germe singolo e di scindere la parte spettante a germi per sé stessi non patogeni, ma che possono riuscire nocivi all'organismo ospite coll'avverarsi di determinate condizioni: ne è un esempio la oscura questione dei saprofiti della putrefazione e di germi che possono acquistare patogenecità per animali ad essi non ricettivi. Si entra cioè nel campo dell'associazione di un germe, innocuo, con sostanze o con altro germe pure innocuo, capace di virulentarlo.

La virulentazione del B. del *C. sintomatico* nei riguardi del coniglio, ottenuta mediante il trattamento con colture, uccise o viventi, di *B. prodigioso* (ROGER), quella dei *cocchi* piogeni, che

trattati con colture del *B. proteus*, possono diventare patogeni per animali abitualmente non ricettivi (MONTI), quella del colera che diventa patogeno pel coniglio (GAMALEYA) se l'animale viene contemporaneamente inoculato con tossine del *prodigioso*, con pepsina, con prodotti della digestione proteica, avevan già dimostrato la possibilità di fatti non prima sospettati. Recentemente ZIRONI e CAPONE condussero interessanti esperimenti, riuscendo a provocare la morte della cavia inoculata ora con colture di *proteo*, più sospensione sterile di agar-cultura di *B. di Shiga Kruse* ora con germi putridi, più essudato peritoneale sterile di cavia, inoculata con un germe del gruppo del *paratifo* B., ora con colture di altri germi anaerobi, per sè stessi non patogeni, ma virulentati mediante aggiunta di essudato peritoneale sterile di individuo morto per g. gassosa. Io, nel corso di questo mio studio, riuscii a virulentare germi putridi non patogeni, abbinandoli ora ad aggressive del *proteo* e del *piocianico*, ora ad essudati peritoneali sperimentali, ora coltivando il germe in terreni speciali (essudato peritoneale tubercolare). Tutto ciò dimostra che la presenza del germe non è il fattore unico dell'infezione, del che abbiamo una prova indiretta in constatazioni giornaliere e nell'esperienze fatte nel corso della guerra; germi patogeni, come il *perfringens*, possono vivere saprofiticamente sulle ferite granuleggianti, pur non perdendo alcuna delle loro proprietà biologiche (DOYEN e JAMANOUCHI).

Lo stesso *perfringens* sopra il tessuto mortificato di una ferita maciullata desta un processo gangrenoso.

Si invoca, e non senza ragione, la azione protettiva della reazione fagocitaria e dei succhi del tessuto di granulazione: l'importanza della fagocitosi è stata messa in giusta luce dalle esperienze di BESSON sulle spore del *V. settico*. Tuttavia l'interpretazione dei fatti resta, per grande parte, ancora oscura, poichè ad essa non soddisfa il concetto fin qui accettato sul significato dell'infezione, che è quello di una azione lesiva esercitata sulle cellule dei tessuti per l'intermezzo di secreti elaborati, di fermenti e di prodotti del disfacimento del suo propoplasma. Oggi si va facendo strada un'altra concezione e cioè che l'organismo ospite racchiuda in sè o possa acquistare elementi determinanti dell'infezione. Questa infatti, secondo le idee di WAUGHAN, sviluppate e modificate per qualche rapporto da THIOLE ed EMBLETON, dipenderebbe da un processo di scomposizione

esercitato dai fermenti dell'organismo sopra il nucleo albuminoso del germe: tale nucleo, identico su per giù per numero e qualità di elementi in tutte le albumine, non è tossico finchè rimane collegato alle catene laterali ad esso innestate, perchè queste lo modificano nelle sue attività chimiche. Le catene laterali, per converso, variabili da albumina ad albumina, sono le determinanti del diverso comportamento biologico dell'albumina stessa. Il germe quindi, penetrato nell'organismo, diventa tossico solo a condizione che nell'ospite esistano fermenti capaci di distaccare le catene laterali e di scindere il nucleo albuminoso.

Ne deriva che se l'organismo non possiede fermenti capaci di intaccare l'albumina del germe, gli effetti tossici vengono a mancare. D'altra parte può darsi o che i fermenti digestivi siano tanto efficaci e rapidi da disgregare l'albumina del germe, subito dopo il suo ingresso nei tessuti del corpo, non consentendo quindi al germe di moltiplicarvisi, oppure che il fermento sia provvisto di facoltà digestive tanto alte, da disgregare il gruppo albuminoideo fino ai componenti più semplici, non più nocivi. In nessuna di tali condizioni, quindi, l'infezione ha modo di prodursi, almeno con effetti sensibili. Se invece l'organismo è provvisto di fermenti di media attività, che, mentre non neutralizzano rapidamente il germe, ne scompongono a poco a poco il nucleo senza giungere agli elementi più bassi della disintegrazione, il germe ha agio di moltiplicarsi, fornendo all'organismo ospite sempre nuova albumina eterogenea, scomponibile in elementi tossici: donde l'intossicazione.

Un paragone di analogia si può forse stabilire a questo punto colla morte nella occlusione intestinale. È di esperienza comune che le occlusioni riescono tanto più rapidamente mortali quanto più sono alte: tipo, l'occlusione del duodeno, che può riuscire letale prima delle 24 ore. Trattasi verosimilmente di sostanze nocive ristagnanti nel tratto occluso, non disintegrate che incompletamente e quindi capaci di determinare effetti talmente tossici, da provocare la morte a breve scadenza.

Come si vede, l'organismo ospite porta in sè un elemento che può riuscire arma di difesa e di offesa insieme l'enzima proteolitico: alle attività limitate di questo è, in ultima analisi, devoluta la possibilità che il germe espliciti azioni nocive all'organismo; l'infezione quindi non sarebbe che l'espressione di una insufficienza quantitativa e qualitativa degli enzimi cel-

lulari, tale da permettere la pullulazione rapida dei germi e la conseguente introduzione nell'organismo di forte quantità di albumina eterogenea, che, disintegrata incompletamente, sarebbe la causa della intossicazione.

Questo concetto teorico non manca di basi pratiche e WAUGHAN porta in appoggio i risultati delle sue esperienze con riproduzione di curve termiche svariate, mediante l'introduzione di albumina eterogenea, eseguita per vie diverse. ZIRONI e CAPONE citano a proposito l'osservazione sul *carbonchio* fatta da GAMALEYA molti anni addietro, iniettando nel coniglio: 1°) *un vaccino attenuato*; 2°) *germi virulenti*; 3°) *germi virulentissimi*. Nel primo caso la febbre è più spiccata che nel secondo, perchè in questo il disfacimento dei germi, più resistenti, è meno rapido che non nel primo, ove i germi con facilità si lasciano aggredire dal fermento; nel terzo caso i germi, moltiplicatisi con molta rapidità, forniscono molto materiale eterogeneo che, disgregato dal fermento, intossica l'organismo ospite senza rialzo termico.

L'entrata di albumina eterogenea determina o stimola, da parte delle cellule, un'azione di difesa che si esplica colla formazione di fermento, in talune circostanze dotato di specificità ma per la generalità dei casi *aspecifico*: ne riscontriamo esempio nell'aumento del potere proteolitico del siero di sangue degli individui neoplastici e nella gravidanza. Dalle modalità colle quali dicemmo poter avvenire la disgregazione del nucleo tossico dipende l'avverarsi o meno dell'infezione, la quale, per verificarsi, necessita di una pullulazione rapida ed abbondante del germe. Fatto il quale può verificarsi o per modificazioni avvenute nel raggruppamento molecolare del protoplasma microbico diventato più resistente all'azione disgregante dell'enzima, o per una riduzione dell'attività di quest'ultimo. S'aggiunga, forse anche, la possibilità di un sovraccarico di lavoro procurato dall'accumularsi, nell'organismo, di sostanze, con carattere di albumina eterogenea per cause insite nella presenza del germe ma anche da esse indipendenti (quali, ad esempio, i traumatismi). A detrimento della difesa organica si viene così a determinare un'azione aggressiva che può essere legata tanto all'azione del germe primitivo od associato, quanto a modificazioni chimiche intervenute nelle cellule dell'ospite.

È in questo modo che riesce agevole comprendere:

1.° la *virulentazione di germi* per sè stessi poco o punto patogeni, come nelle esperienze citate di ROGER, MONTI, GAMALEYA, ZIRONI e CAPONE e nelle mie;

2.° la *ricettività verso l'infezione*, in animali refrattari (esperienze di ROGER e forse anche qualcuna delle nostre, delle quali verremo dicendo);

3.° l'*importanza delle associazioni microbiche*. — A quest'ultimo riguardo è nota l'importanza attribuita al polimicrobismo, quale momento causale dell'infezione gassosa. COSTA e TROISIER nel 1915 di fronte a due casi di feriti con presenza del solo *perfringens*, guariti senza complicazioni, ne citano cinque altri, in quattro dei quali il *pneumococco* era associato al *perfringens* ed in uno al *vibrione settico*, con manifestazioni di gangrena gassosa più o meno grave; in altri tre infine l'associazione del *perfringens* al *pneumococco* non era accompagnata nè da gas nè da odore. Sperimentando sulle cavie i due A.A., mediante l'iniezione di *perfringens* non virulento + *pneumococco*, riprodussero un quadro mortale in 48 ore con edema sanguinolento ed un quadro attenuato, con edema localizzato, duro, odore fetido, sanie sanguinolenta. Gli A.A. quindi, di fronte alla frequente innocuità del *perfringens* solo, fanno risaltare la possibilità di determinare sindromi di gangrena gassosa, quando al germe venga associato il *pneumococco*, indirettamente quindi prospettano una svalutazione del germe, preso a sè, nella patogenesi dell'infezione. È il concetto già svolto da MUSCATELLO e GANGITANO, ripreso nel corso della guerra da molti altri tra i quali FOURCADE, TISSIER, W. KOLLE e SCHLOSSBERGER per gli anaerobi in genere, considerati, il più delle volte, quali saprofiti semplici. TISSIER infatti nega ogni patogeneticità al *perfringens*, al *Vib. settico* ed in generale agli anaerobi delle ferite, presi isolatamente, mentre gli stessi germi diventano altamente patogeni se uniti alla *stafilococco*, al *B. mesentericus*, al *B. proteus*, all'*enterococco*, allo *streptococco*. Ma mentre l'esaltamento del germe per parte dell'associazione è un fatto comprensibile alla stregua di quanto abbiamo sopra riportato nell'interpretazione del fenomeno infezione, non riesce agevole accogliere le conclusioni di TISSIER, almeno nel campo sperimentale, ove giornalmente con culture pure dei germi siamo in grado di riprodurre il quadro dell'infezione e, si può dire, di disciplinarne le manifestazioni.

D'altra parte, contro l'eccesso opposto di chi sostenne l'influenza neutralizzante di alcuni germi aerobi sugli anaerobi (MARGOULIES, AITOFF e BRAILOWSKY), stanno esperienze, già citate, di ROGER, di ZIRONI, le mie, nonchè tutta una serie di prove, tendenti a dimostrare irrefutabilmente i danni derivanti dall'intera associazione anaerobica. Da HIBLER a ROBERTSON, WEINBERG e SÉGUIN a noi, è tutta una catena di fatti, in seguito ai quali risulta la gravità di questa interassociazione anaerobica. Inoltre l'interassociazione, anche per germi aerobici abitualmente non patogeni, è stata invocata a spiegare l'insorgenza di forme, a carattere edemo-gangrenoso ed a decorso mortale. Infatti FIESSINGER e BARRIEU recentemente, iniettando culture pure di *B. mucoide*, di *B. mesenterico*, e di *B. antracoide* assieme ad un *streptococco* non patogeno, riprodussero, nelle cavie, necrosi, edema dei tessuti, morte in 44 ore. Gli stessi AA. riscontrarono un quadro analogo iniettando culture pure dei suddetti germi nei muscoli contusi e lacerati della cavia, inoltre, constatarono un notevole aggravamento delle lesioni associando al *perfringens* il *B. antracoide*. A proposito di quest'ultimo germe però è opportuno fare rilevare che un ceppo di esso in cultura pura si dimostrò capace di provocare, nel topo, lesioni a carattere sieroemorragico e morte dell'animale entro le 14 ore (WEINBERG e SÉGUIN).

Come sopra accennammo esiste una marcata tendenza a considerare gli anaerobi delle ferite, e specialmente il *perfringens*, quali germi *avirulenti* e W. KOLLE, H. RITZ, H. SCHLOSSBERGER hanno anche di recente insistito sopra il fatto che questi germi diventano patogeni solo in determinate condizioni e cioè nel caso di gravi traumatismi che alterino profondamente la costituzione anatomica dei tessuti. In tale concetto si sarebbe forzati ad ammettere che nel focolaio di ferita si producano sostanze a carattere di aggressione, capaci di ostacolare la produzione del fermento o limitarne l'attività disgregatrice ed al tempo stesso, di agire sopra le catene laterali modificando i rapporti di queste col nucleo albuminoideo, in modo da determinare cambiamenti nel comportamento biologico della albumina che costituisce il protoplasma del germe. In tal modo verrebbe a spiegare la virulentazione dei germi abitualmente saprofiti e la clinica ripeterebbe, almeno per una certa parte, le condizioni dell'esperimento, col quale, come

abbiamo visto, si riesce a conferire patogeneticità a germi che solitamente ne sono privi.

A tale argomento può collegarsi l'altro delle manifestazioni tardive dell'infezione gassosa.

TAROZZI nel 1905 dimostrava la possibilità che le spore del tetano, introdotte per via endovenosa nel coniglio, si fissino negli organi e specialmente nel fegato, ove per condizioni favorevoli, ad arte procurate, come ad esempio a mezzo di un trauma (schiacciamento), esercitato sul viscere, possono svilupparsi e riprodurre il quadro tipico del tetano. I casi clinici di tetano tardivo trovarono quindi conferma nel laboratorio ed in esperimenti successivi. Nel corso della guerra, le osservazioni di tal genere, sia per il tetano, che per le infezioni gassose, si sono ripetute, tanto che HODESMANN riporta un caso di gangrena gassosa manifestatasi dopo 22 mesi, e WEINGERG e SÉGUIN riferiscono di un caso di flemmone gassoso a flora anaerobica ed aerobica, esploso dopo 32 mesi. Queste osservazioni cliniche venivano in appoggio delle ricerche sperimentali di LECÈNE e FROUX (1916), confermate poi da POLICARD e DESPLAS (1917). Questi AA., dimostrando la presenza di anaerobi virulenti nei tessuti cicatriziali, mettevano in luce l'importanza del trauma e quindi dell'atto chirurgico, come momento capace di risvegliare la sopita attività dei germi, il quale fatto clinicamente era già stato intravisto da PHOCAS (1915) e da SIMON (1916).

Prospettato in tale guisa, il concetto moderno dell'infezione, apre orizzonti nuovi all'indagine sperimentale e getta luce su punti, fin qui oscuri, nella interpretazione di fenomeni clinici.

PARTE III.

LA FLORA BACTERICA DELLE FORME EDEMO-GASSOSE

a) **Periodo antebellico.** — Colla descrizione (1877) per parte di PASTEUR di un germe da lui isolato dal sangue putrefatto di una vacca e denominato *vibrione settico* si prospetta la concezione unicista della infezione gassosa; concezione che per opera di CHAUVÉAU ed ARLOING verrà ribadita, nel 1884, sotto il nome di *settiremia gangrenosa*, nei riguardi di parecchi casi clinici,

nei quali il germe patogeno è dagli AA. integrato col *V. settico*. Nello stesso anno però ROSEMBACH, in Germania, tendeva a riportare la setticemia gangrenosa dell'uomo al *B. sintomatico*, in ciò assecondato da W. KOLLE.

La concezione unicista di CHAUVEAU ed ARLOING intanto si afferma in Francia e viene accettata anche in Germania, dove però al tempo stesso va prendendo consistenza una concezione clinica dell'infezione, determinata dal *vibrione settico*, alquanto diversa da quella di PASTEUR, cioè quella che R. KOCH, prendendo a base il reperto anatomico degli animali inoculati col vibrione, compendia colla denominazione di *edema maligno*: e così: *setticemia gangrenosa*, *setticemia gassosa*, *edema maligno* sono le terminologie adottate, per significare l'infezione da *vibrione settico* o *B.* dell'*edema maligno*, nei casi che, intanto, si sono andati pubblicando (BRAATZ, BREMER, VERNEUIL, HOEG, GIGLIO, WITTE, NEKAN, CAMPENON, GÉRARD MARCHAND).

La concezione unicista, inaugurata da CHAUVEAU ed ARLOING, accettata da R. KOCH, GAFFKY, e parecchi altri, resta dominante fino al 1892, per nulla scossa da altre osservazioni (LIBORIUS, SANFELICE, KLEIN), le quali potevano lasciare intravedere la possibilità di un polimicrobismo, nella genesi delle forme gassose. Nel 1892 intanto WELCH e NUTTAL, nel 1893 E. FRAENKEL isolarono, i primi dagli organi schiumosi d'un cadavere, il secondo dai tessuti di pazienti con piaghe gassose, un germe da essi rispettivamente denominato *B. aerogenes capsulatus*, e *B. phlegmonis emphysematosae*, che, descritto successivamente (1897) da VEILLON e ZUBER, resta oggi più comunemente conosciuto in Francia ed in Italia sotto la denominazione da questi ultimi introdotta, di *B. perfringens*. È a questo germe che nel corso di pochi anni venivano riportate numerose osservazioni di infezioni gassose in Germania ed in America; in Italia, MUSCATELLO e GANGITANO eseguivano sul germe un notevole studio.

La concezione unicista delle infezioni gassose veniva, così, a tramontare ed il *vibrione settico* trovavasi detronizzato, non soltanto dal *perfringens*, ma anche da altri germi, che man mano andavansi descrivendo, quali possibili agenti del quadro edemogassoso = *edema-maligno* (*B.* di NOVY, *B. aerobio* di LEGROS e LECÈNE, *B. aerobio* di UFFENHEIMER, *B.* di STOLZ): tra questi il *B.*, isolato da NOVY nel 1894 nella cavia, doveva acquistare nelle osservazioni eseguite nel corso della guerra, non poca notorietà,

specie per opera di WEINBERG e SÉGUIN, i quali affermano che il bacillo da essi sì frequentemente isolato dalle ferite di guerra (*B. oedematis*) o è identico o estremamente vicino al *B. dell'A. americano*.

A questo punto e cioè tra il 1897 ed il 1903 il *vibrione settico* o *B. dell'edema maligno* nel senso di R. KOCH, tiene il campo assieme al *perfringens* nella infezione edemo-gassosa; ma la discussione si accende nei riguardi delle lesioni anatomiche dai due germi provocate, sì nell'uomo che nell'animale da esperimento. Per quanto si riferisce al *perfringens*, l'accordo interviene abbastanza sollecitamente sulla base delle conclusioni di HITSCHMANN e LINDENTHAL, e cioè che il germe sia capace di provocare tanto nell'animale da esperimento che nell'uomo un quadro piuttosto uniforme, consistente nella *infiltrazione gassosa dei tessuti, nella miolisi e nella setticemia*.

Per il *vibrione settico* o *B. dell'edema maligno* le cose, invece, passano diversamente. Il quadro sperimentale già riferito da R. KOCH per la cavia e successivamente confermato anche per animali di grossa mole, come il cavallo (WEINBERG e SÉGUIN) consisterebbe più comunemente nell'infiltrazione edemo-emorragica, senza setticemia; si avrebbe cioè il quadro di una tossi-infezione, nella quale l'emocultura riescirebbe spesso negativa.

La questione agitata fu allora la seguente: nei casi clinici pubblicati come *edema maligno* si ebbe il quadro anatomico sperimentale? esisteva un vero *edema maligno* clinico?

I casi pubblicati sotto la denominazione di *edema maligno* tra il 1887 ed il 1892 non autorizzano ad una risposta affermativa; abbastanza probativo il caso di MUIR e RITCHIE, incerto quello di BRAEBEC, per la descrizione incompleta del germe: in ambedue questi casi esisteva edema emorragico, con poco o punto gas.

Nel 1904 io ebbi opportunità di osservare un giovane con imponente edema emorragico su una zona di arrossamento cupo a livello della fossa sotto e sopraclavicolare destra; da una incisione praticata sulla regione sotto-clavicolare defluì siero sanguinolento: la coltivazione in terreni aerobici sortì esito negativo. Il paziente morì in 36 o 40 ore, con sintomi generali che mi fu poi dato riscontrare in parecchi feriti nel corso della guerra. L'incompletezza delle indagini non permise alcuna deduzione.

Ora, i casi clinici già menzionati non sono sufficienti a farci

ritenere: 1°) che al *vibrione settico* o *B. edema maligno* debba andare unito un concetto di *edema maligno* nel senso clinico; 2°) che le lesioni anatomiche riscontrabili nell'uomo, al seguito di infezione da *vibrione* o *B. dell'edema maligno*, debbano avere carattere prevalentemente *edematoso*. Tali lesioni al contrario possono con frequenza presentarsi anche col quadro della *gangrena gassosa* o *setticemia gangrenosa*. GHON e SACHS, i quali, nel loro studio sul *vibrione settico*, adottano per questo germe la denominazione di *R. Koch* e cioè di *B. dell'edema maligno*, ricavarono il germe da un tipico caso di *gangrena umana*, il quale presentava il quadro dell'infiltrazione gassosa, propria del *perfringens*.

D'altra parte, anche il quadro sperimentale del *vibrione settico*, almeno nei piccoli animali da laboratorio, è tutt'altro che quello costantemente tossico e nel corso di questo lavoro verranno moltiplicandosi gli esempi di rapida, precoce setticemia, e di infiltrazione gassosa dei tessuti, negli animali morti in seguito alla inoculazione di coltura di *vibrione settico*.

Del resto NICOLLE ammise già da tempo una pura forma tossica, ed una virulenta del *V. settico*, come ribadiscono oggi WEINBERG e SÉGUIN. Senonchè, quando l'accordo anche su questo punto parve raggiunto, nel senso che il *B. oedematis maligni*, di R. KOCH, da GHON e SACHS omologato al *vibrione settico* di PASTEUR, può provocare un quadro clinico ed anatomico molto vicino a quello del *B. perfringens* (infiltrazione gassosa predominante), v. HIBLER nel 1908 tende a creare un tipo di *edema maligno* sperimentale, dovuto ad un germe non identificabile col *v. settico* per alcune note colturali, sulle quali ritorneremo in appresso e per certe tendenze a provocare lesioni putride nei tessuti dell'animale inoculato, carattere questo che costantemente manca nelle lesioni provocate colle inoculazioni di *vibrione B. X.* di v. HIBLER.

Il campo torna quindi nuovamente a dividersi, segnatamente in Germania, dove la concezione di v. HIBLER raccoglie il quasi unanime consenso, tanto che da un lato si descrive una *gangrena gassosa*, nel senso di E. FRANKEL, nella quale le lesioni sono specialmente testimoniate dallo scollamento di tessuti, dalla formazione di più o meno voluminose raccolte di gas, dalla setticemia; dall'altro, un *edema maligno*, in senso anatomico. Della gangrena gassosa sarebbero agenti, oltre il *B. perfringens* ed

il *V. settico* di PASTEUR, B. di GHON e SACHS, germi anaerobi (B. di WICKLEIN, di KLEIN, *B. putrificus* di BIENSTOCK, B. di LABORIUS, ecc. ecc.) ed aerobi (B. di UFFENHEIMER, *B. proteus*, *B. Coli*, *B. antracoide* ed altri).

Ora, se noi consideriamo, come osservano WEINBERG e SÉGUIN, che nei casi di vecchia data, descritti come *edema maligno umano* niente autorizza ad identificare i germi descritti col B. di v. HIBLER e solo per qualcuno si può propendere a riportarlo al *v. settico*: se si pensa che il B. di v. HIBLER fu isolato dall'A. da tessuti di animali o dal terreno, *mai* dall'uomo, se si aggiunge che il carattere della putridità delle ferite di guerra mai poté essere riportato alla presenza di un germe patogeno coi caratteri o del *vibrione* o del B. di v. HIBLER, si sarebbe tratti a concludere che l'esistenza di quest'ultimo germe è molto problematica, purchè, e qui è d'uopo di qualche riserva, non si entri nel concetto di potersi trovare dinanzi talvolta a germi a carattere putrefacente anche incostante, provvisti di note colturali molto affini a quelle descritte pel B. X (alcalinizzazione del latte, del cervello, liquefazione del siero coagulato) e capaci anche di acquistare potere patogeno. Nel corso del lavoro ritorneremo sopra questo argomento. Qui mi limito a dire che WEINBERG e SÉGUIN non sono alieni dal ritenere che, nei riguardi del bacillo descritto da v. HIBLER, possa essersi trattato di coltura impura, per associazione di un B. putrificante, il *B. sporogeno* di METCHNIKOFF, col *V. settico*. In tal modo potrebbe spiegarsi il quadro anatomico sperimentale, descritto da v. HIBLER, sotto forma di edema emorragico, accoppiato a lesioni putride dei tessuti e potremmo anche darci ragione delle risultanze delle prove di agglutinazione praticate da MARKOFF, mettendo il siero agglutinante antivibrione in contatto col B. dell'edema maligno proteolitico nel senso di v. HIBLER, se si ammette che la coltura impura di quest'ultimo risultasse di *vibrione* + *B. sporogeno*.

Io ho accennato a tale questione, pur trovandomi nella impossibilità di risolverla direttamente, per la mancanza degli elementi primi di controversia e cioè la coltura originale del B. di v. HIBLER. Torno però a ripetere che il non aver potuto trovare durante le nostre numerose osservazioni del periodo bellico un germe, decisamente patogeno, rispondente sì per i caratteri delle lesioni sperimentali che per le proprietà colturali al tipo di v. HIBLER, lascia per lo meno molto dubbiosi sulla vera essenza del germe

da questo A. descritto, a meno che la riserva da me sopra espressa e sulla quale insistono tanto WEINBERG e SÉGUIN (coltura impura di vibrione settico + B. sporogeno) non sia accettata per appianare la controversia.

Riepilogando, la flora batterica delle infezioni edemo-gassose del periodo antecedente alla guerra europea si compendia in tre tipi principali di anaerobi patogeni e cioè: il *V. settico* di PASTEUR, il *B.* di v. HIBLER, il *B. perfringens*. Questo ed il vibrione con particolare frequenza sono stati isolati dai tessuti viventi dell'uomo e del cadavere, il *B.* di v. HIBLER invece resta nel puro campo sperimentale. Attorno a questi tre, altri germi figurano, ma di minore importanza, incostantemente patogeni, anaerobi ed aerobi: tra i primi vanno ricordati il *pseudo-edema* LIBORius-SANFELICE morfologicamente affine al vibrione settico, il *B. sporogeno* di METCHNIKOFF, pur esso vicino al vibrione settico, ed anzi, secondo METCHNIKOFF, da considerarsi come una varietà di questo, il *B. enteriditis sporogenes* di KLEIN ed il *B. putrificus* di BIENSTOCK, affine allo sporogeno.

Tra gli aerobi vanno menzionati il *B. pseudo-edema* di SANFELICE-KLEIN ed il *B. antracoide*, capace talora di azione patogena nel topino con un quadro simile a quello del *vibrione settico*.

A scopo di comparazione con quanto verrò esponendo in appresso circa la flora batterica delle ferite di guerra, stimo opportuno fare precedere una descrizione dei tipi principali che, come ripeto, costituivano la base batteriologica della infezione gassosa, meglio conosciuta nel periodo pre-bellico.

Vibrione settico (PASTEUR) o B. dell'edema maligno (KOCH, GAFFKY)

È l'anaerobio patogeno da più lungo tempo conosciuto, giacchè la sua descrizione rimonta al 1877, ad opera del PASTEUR.

La storia batteriologica del germe è quanto mai si possa concepire di contraddittorio e complicato, dall'epoca degli studi di PASTEUR, KOCH, GAFFKY sino ai primi anni del secolo in corso. SANFELICE (1893), EISENBERG (1899), GOULD (1903) sono tra gli AA. che meglio si avvicinano ai concetti, col quale oggi noi concepiamo l'essenza complessiva del germe e la sua posizione nella sistematica: a GHON e SACHS è devoluto il merito di una tra le più complete descrizioni al riguardo.

Il v. settico fu da me studiato in tre campioni; di questi, uno rappresenta il ceppo originario dell'Istituto Pasteur, il secondo fu da me isolato dal terreno, il terzo mi pervenne dall'Istituto batteriologico di Praga.

La descrizione che segue è improntata al campione dell'Istituto Pasteur: degli altri due ceppi sarà occasionalmente tenuto cenno, a seconda della opportunità.

Per i mezzi di tecnica che mi servirono allo studio rimando a quanto verrò esponendo nella terza parte.

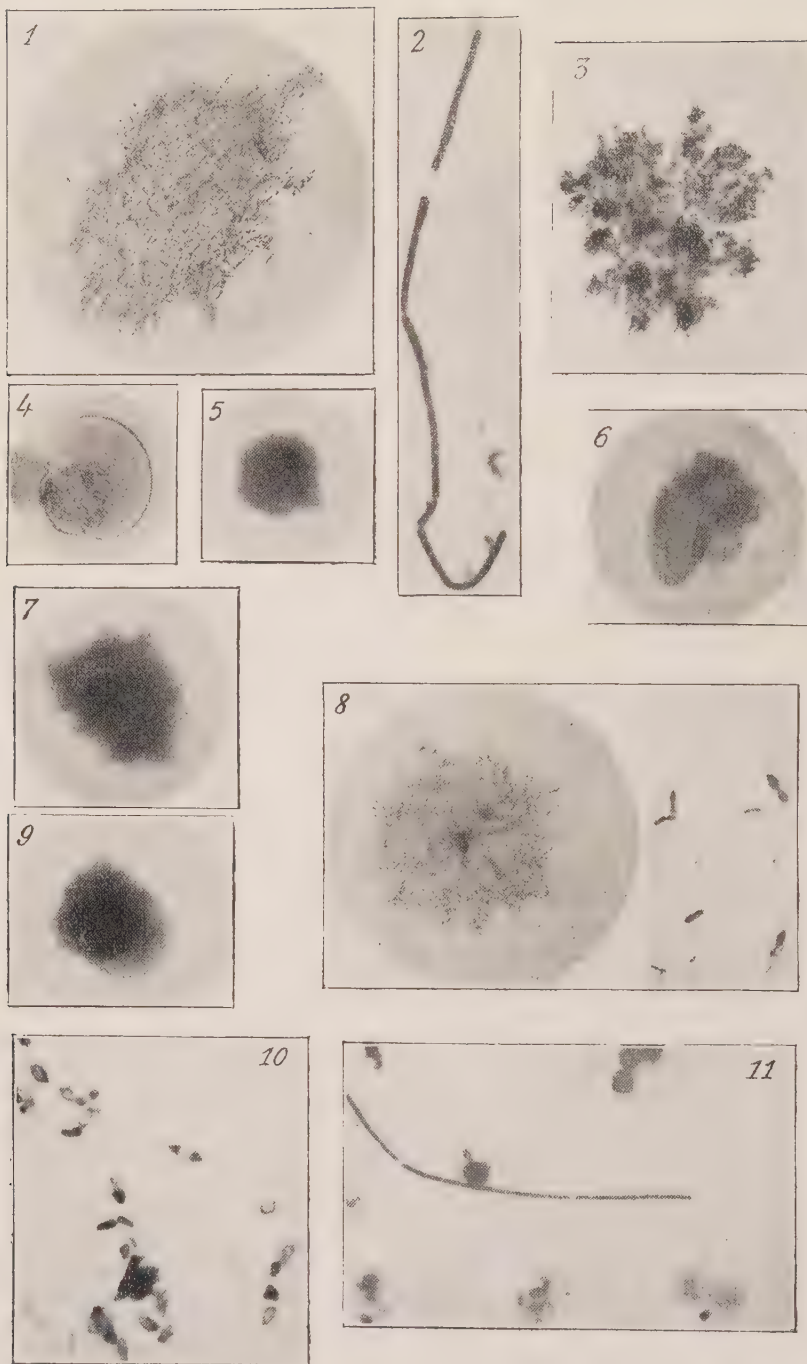
a) **Colonia.** — L'opportunità di potere osservare nel modo più acconcio e seguire lo sviluppo delle colonie in agar col metodo della triplice piastra, secondo SANFELICE-MARINO, ha infinitamente avvantaggiato questa parte del mio studio.

È bene subito avvertire che lo sviluppo del germe non si ottiene se non a prezzo di una tecnica accurata nella preparazione del terreno di coltura e nell'allestimento della piastra, e che non infrequentemente esso è tanto stentato da rendere malagevole l'osservazione. In linea generale tuttavia, la piastra di agar preparato con brodo di fegato permette lo sviluppo di colonie che possono venire osservate al loro inizio, seguite attraverso le eventuali modificazioni ed utilmente raffrontate le une alle altre, nel caso non infrequente di un loro relativo pleomorfismo. È appunto per questo riguardo che il sistema della triplice piastra offre vantaggi, difficilmente conseguibili cogli altri mezzi di coltivazione come già osservarono FASIANI e ZIRONI.

Colpita all'inizio, ed osservata a debole ingrandimento, la colonia tipica si presenta come un esile cespuglietto, talvolta come una sottile trama reticolare, al cui centro sta un anello: la colonia in questo stadio è tanto trasparente che è d'uopo diaframmare completamente per poterla distinguere. Tale facilità a presentarsi sotto forma di anello è particolare dell'inseminamento abbondante e della tendenza delle colonie a crescere in forte numero e con dimensioni modeste.

Talvolta non esiste che il solo anello nudo, con ramificazioni cortissime e polari: opacandosi alquanto il centro dell'anello, la colonia viene ad assumere l'aspetto lenticolare a contorni regolari, netti o con esilissimo ciuffetto spesso in un piano diverso da quello dei margini (ciuffetto centrale).

Procedendo nello sviluppo, e specialmente se il numero è limitato, la colonia tipica tende ad assumere quella conformazione caratteristica che la fa rassomigliare ad un batuffolo di ovatta: è l'aspetto fioccoso, conferito da innumeri filamenti esilissimi, lunghi, che ora si dipartono con direzione radiata, senza connessioni laterali reciproche, ora invece si intrecciano a guisa di rete a maglie larghe. La conformazione primitiva anulare del centro persiste, ma spesso è adombrata dall'intrecciarsi dei filamenti e dal costituirsi delle maglie: si può quasi sempre metterla in evidenza, con adatti artifici di illuminazione. La parte centrale della colonia, in ogni modo, rimane segnalata da un addensarsi della sostanza filamentosa, tanto che osservando con una semplice lente di ingrandimento, essa spicca per un colorito più o meno carico, giallo-grigio, sulla zona filamentosa chiara. Raramente il centro si addensa tanto da risultare completamente opaco. A questo punto la colonia ha raggiunto il suo sviluppo definitivo, e se non avvengono modificazioni di ambiente può conservare per lungo tempo l'aspetto descritto. Se invece sonosi verificate infiltrazioni di aria atmosferica attraverso fessure dell'agar o tanto più, se viene rimossa la 3.^a piastra, la colonia, specie la superficiale, diventa più trasparente e talvolta del tutto diafana, tanto che a distanza di 24 ore riesce appena



percettibile. Il fatto è tanto più facile a verificarsi quanto meno marcato è l'addensamento centrale.

Evidentemente tale trasformazione della colonia è alle dipendenze delle condizioni disagiate nelle quali essa viene a trovarsi pel contatto coll'atmosfera esterna: a riprova di che valga il fatto che la colonia profonda più lungamente conserva i caratteri primitivi.

Coll'invecchiamento subentrano spesso alcune modificazioni che riguardano specialmente la zona di addensamento centrale: questa allora può perdere la sua uniformità e presentarsi distribuita in blocchetti (fig. 3, pag. 422). Altra modificazione può consistere nel disegnarsi più spiccato di esili anelli sul tragitto delle fini ramificazioni.

La forma della colonia tipica è quella *aperta* o a *batuffolo di ovatta* (fiocco di neve degli A.A. francesi). Ma non è raro imbattersi in tutta una gamma di variazioni, dal semplice anello con presenza di un ciuffetto di filamenti, alla forma discoide, con produzioni sferoidali centrali e con aspetti fra i più eleganti e variati.

La ragione e la modalità di tale relativo pleomorfismo non trovano una facile ed uniforme spiegazione. Per quanto riguarda la forma di colonia chiusa mi fu dato osservarla nei casi nei quali l'allestimento delle piastre di agar era stato eseguito insemenzando il terreno con colture di antica data: così ad es. il tipo di colonia riprodotto dalla fig. 4 della pag. 422 erasi ottenuto usando colture in brodo al fegato di 73 giorni: lo sviluppo in agar risultò stentato in onta all'abbondante insemenzamento: la colonia della Fig. 4 in 2.^a giornata venne trapiantata in brodo e colla nuova coltura di 48 ore fu allestito un nuovo agar, nel quale si ottenne sviluppo abbondante di colonie aperte, a batuffolo, senza traccia di forme chiuse.

L'importanza di tale fatto non può a meno di venire fissata e ricorrerà altra volta alla nostra considerazione.

b) **Germe.** — 1°. *Forma e dimensioni.* — In agar di 24 ore: bastoncino sottile il più spesso diritto, raramente ricurvo a largo semicerchio, estremità rotondeggianti, e talvolta leggermente rigonfie, eccezionalmente appuntite: notevole la frequenza del polimorfismo, pleomorfismo, a doppia pera, a punta di lancia, a limone (fig. 8, pag. 422). Nel ceppo P. tale pleomorfismo è specialmente delineato e rappresenta una caratteristica morfologica di alto valore, soprattutto per la frequenza delle forme a doppia pera o a punta di lancia. Negli altri due stipiti, predomina, come forma atipica, l'aspetto a navetta ed a limone.

La forma diritta, esile, misura 3, 4, 5 μ . per 0,6. 0,7 μ . raramente si incontrano corte catenelle o brevissimi filamenti.

Nelle colonie più avanzate predomina la forma diritta, con corpo protoplasmatico ad aeree incolore nei comuni mezzi e tendenza alla jodofilia.

Nel brodo glucosato frequente è la tendenza alla forma filamentosa (fig. 2, pag. 422) o, specialmente, quella di germi sottili, uniti a due, a tre. Nel brodo non glucosato, la forma è del tutto caratteristica; numerose forme atipiche, ad arcolaio, a limone, a lancia, inoltre; spore a clostridio (fig. 10, pag. 422): il che costituisce un quadro morfologico sufficiente spesso all'orientazione diagnostica. Nel siero di bue la tendenza al filamento lungo, a groviglio, è pronunciatissima.

Nei liquidi patologici e nei tessuti il germe si presenta ora in bastoncini esili e lunghi, ora con aspetto di clava, ora nei tipici filamenti. Quest'ultimo aspetto è caratteristico della superficie del fegato e del liquido peritoneale (fig. 11, pag. 422). Nel liquido di edema la forma filamentosa è molto meno frequente.

2.^o *Colorabilità*. — Facile nei liquidi patologici; meno, nel brodo; difficile nell'agar: il liquido di Ziehl sovrviene bene nei casi di difficoltà nella colorazione. Il germe è Gram-resistente; nello stesso preparato però le tonalità di tinte possono considerevolmente variare e spesso l'aspetto del corpo protoplasmatico è granuloso con aree chiare alternate ad aree colorate: la colorazione spesso è semplicemente bipolare, in modo che al centro il corpo del germe risulta incolore: notevole la presenza di zone jodofile nel protoplasma.

3.^o *Sporificazione*. — Tarda ed irregolare in agar, rapida e pressochè costante (16-20 ore) nel brodo col fegato, nella pappa di cervello e nel brodo-ascite, meno vivace nel latte e nel siero coagulato: assente nella bile.

Lo sporificazione è preceduta da un complesso pleomorfico caratteristico, al quale abbiamo già accennato (forme a doppia pera, a navetta, a limone, ad arcolaio, a lancia).

La spora il più spesso è centrale; nella sporificazione subterminale, frequente è la spora immatura. In quest'ultimo caso, l'estremità bacillare è rigonfia. Con molta facilità però la spora si rende libera; si presenta allora leggermente ovale, o rotondeggiante, di dimensioni modeste ($\mu 1 \times 1.5$) e non facilmente colorabile.

4.^o *Mobilità - Ciglia*. — Nei liquidi patologici, come ad esempio il liquido di edema ed il liquido peritoneale, la mobilità è bene evidente; essa è in rapporto inverso alle dimensioni del germe, poichè, mentre è vivace, di traslazione e di vorticosità negli elementi isolati e corti, è invece ondulatoria, lenta, serpentina nelle forme filamentose ed appena percettibile nei veri filamenti; nel liquido peritoneale la mobilità è generalmente più vivace che nel liquido di edema.

Fra i liquidi colturali, il brodo-ascite si presta bene per l'esame della mobilità, vivace anche nelle colture di una certa età: nel brodo al fegato semplice i movimenti attivi sono tanto più vivaci quanto più fresca è la coltura: nella bile la mobilità è ben evidente e talvolta vivace anche nelle forme filamentose; nei liquidi glucosati, la mobilità è meno manifesta e si mantiene meno a lungo.

Nell'agar sangue e nell'agar-ascite i movimenti sono più evidenti e durevoli che nell'agar glucosato semplice.

Le ciglia sono con discreta facilità colorabili col metodo di Löffler, e di De Rossi. Sono peritriche, in numero di 6-12-16; per lo più di lunghezza mediocre ed uniforme; nei nostri esami non fu dato constatare ciglia giganti: v. HIBLER invece ne descrive a forma di cespuglio e di dimensioni molto notevoli.

5.^o *Caratteri colturali*. — Brodo al fegato semplice. — Sviluppo rapido, intorbidamento piuttosto scarso, notevole quantità di gas; talvolta aereazione del frammento, odore più o meno marcato di acido butirrico o di prosciutto rancido. Nessun cambiamento di colore tanto nel brodo che nel frammento, manca il minimo accenno all'odore di putrefazione; acidificazione.

Verso il 3° giorno, talvolta anche entro il 2° si forma un deposito fiocoso che non raggiunge però notevoli proporzioni; il liquido soprastante si fa sempre più limpido e finisce col diventare perfettamente trasparente. Il deposito è costituito da germi in buona parte sporulati e da bastoncini, irregolarmente colorabili, taluni con colorazione bipolare e zona centrale incolore, altri con granulazioni cromatiche, alcuni infine con corpo bacillare uniformemente colorato, ma con varie tonalità di tinta.

Brodo al fegato glucosato (dal 0,50 al 2 %₀₀). — Maggiore sviluppo di gas, più spiccata tendenza alla forma filamentosa, sporificazione meno abbondante, discretamente frequente però la presenza di un rigonfiamento polare col tipo delle spore immature; acidificazione intensa.

Brodo Martin con o senza glucosio. — Caratteri simili a quelli notati nei brodi corrispondenti, allestiti con fegato; sviluppo molto rigoglioso.

Brodo al fegato + bianco d'uovo coagulato — Sviluppo presso a poco come nel brodo al fegato semplice; l'uovo non è per nulla intaccato.

Brodo al fegato + siero coagulato. Sviluppo c. s.; può essere notevole il numero delle spore libere.

Latte. — Coagulazione massiva con coagulo tenue entro le 24-76 ore: in seguito, coagulazione a spugna, formazione di siero limpido. Gas — acidificazione spiccata — sporificazione discretamente abbondante.

Bile. — Intorbidamento, poco gas; incostante, leggera acidificazione - Forma filamentosa; non si osservano, abitualmente, che scarsissime spore.

Liquido ascitico al fegato. — Sviluppo discretamente rigoglioso con intorbidamento marcato e poco gas; odore leggermente sgradevole.

Sangue umano. — Coagulazione, laccatura — Formazione rapida di spore.

Liquido di Zacherl. — Colorazione rosea marcata tra le 18 e 24 ore: l'arrossamento cresce nelle 24 ore successive; col tempo si forma un deposito roseo-arancio al fondo della provetta.

Pappa di cervello. — Nessun annerimento, lieve deposito rosso, sporificazione abbondante e presenza di numerose spore libere; acidificazione.

Muscolo umano. — Sviluppo rigoglioso, con gas in notevole quantità, acidificazione

Muscolo bovino. — Sviluppo analogo al precedente.

Agar al fegato. — Colonie tipiche a batuffolo, di varie dimensioni: atipiche, chiuse, talvolta a nucleo nero scuro, od a largo anello, con grosso ciuffo. In complesso le colonie crescono stentatamente.

Agar Veillon. — Sviluppo per quasi tutta l'altezza della colonna, fino a 4-6 mill. dalla superficie: rottura dell'agar, talvolta frammentazione multipla, formazione di acqua di condensazione in modica quantità; nessun odore.

Agar alla pancreatina in piastra. — Colonie aperte, di dimensioni talvolta notevoli.

Gelatina al fegato in piastra. — Colonia a batuffolo; fluidificazione irregolare; discretamente rapida in uno degli stipiti, tarda negli altri due.

Gelatina al fegato non glucosata. — In alto strato: Fluidificazione lenta, talvolta incompleta

Gelatina al fegato glucosato al 2 %₀₀. — Fluidificazione lenta, ma costante e completa.

Siero di bue coagulato. — Il germe vi si moltiplica modificando incostantemente la reazione che ora resta alcalina, ora è neutra, ora è anfotera; in uno stipse lievissima acidificazione; la sporificazione è poco o punto accennata: nelle culture vecchie spiccatissima la disposizione in lunghi ed esili filamenti spesso raccolti in voluminoso groviglio.

6.^a *Resistenza*. — La forma vegetativa resiste poco al calore (a 65° muore dopo pochi minuti) ed agli antisettici: la spora sopporta impunemente alte temperature (95°-100°) ed ha una resistenza pressochè infinita all'essiccamento. Le culture in brodo anche di data molto antica conservano pressochè intatto il loro potere patogeno.

7.^a *Proprietà biochimiche*. a) Attività saccarificante. — Il *v. settico* è un saccarolitico abbastanza attivo; *glucosio*, *maltosio*, *lattosio*, sono scomposti con formazione di acido e di gas: la produzione di acido lattico è di diversa entità: la fermentazione del *saccarosio* è meno attiva e non costante.

b) Attività proteolitica. — Esclusivamente limitata alla gelatina, che viene fluidificata tanto più rapidamente quanto più rigoglioso è lo sviluppo; la gelatina glucosata meglio si presta a questo scopo.

8.^a *Proprietà patogene*. — Cavia. — L'inoculazione sottocutanea (inguine) di 1. cc. di coltura di 3 giorni in cavia di 450-500 grammi è mortale entro le 24 ore, spesso dopo 8 ore.

L'animale 2-3 ore dopo l'iniezione presenta un rialzo termico di circa 1 grado, è irrequieto ed ogni tanto è preso da scosse; fa sbalzi ed emette dei gridi specialmente se toccato: il pelo è arruffato, particolarmente sul collo e sulla testa. Nei casi ad andamento galoppante, mancano o sono poco manifesti i fenomeni irritativi ed invece sono accentuati quelli di depressione, già fino dalle prime ore dopo l'iniezione.

Al periodo di irritazione con frequenza subentra paresi del treno posteriore e dello sfintere anale, astenia, ipotermia, di 4 e più gradi (da 39° a 34°) che può durare per qualche ora e che ad ogni modo tiene larga parte del periodo di sopravvivenza. Localmente, si riscontra ora tumefazione lievemente areata, rosso bluastro, il più spesso edema pastoso senza gas; frequente lo scolo in liquido sanguinolento, contenenti molti germi, non sporulati.

All'*autopsia*: pelo facilmente staccabile, cute rossa a chiazze violacee, muscoli dell'addome rosso-minio, ora umidi ora asciutti, qua e là con bolle di gas: l'edema interessa in modo notevole i genitali, specialmente maschili: il gas può infiltrarsi nello spazio paraperitoneale e raccogliersi in larga quantità sui fianchi; spesso se ne trova in grosse bolle all'ascelle.

Le ghiandole linfatiche della regione sono tomentose, iperemiche. Non si osserva digestione dei muscoli.

Nel peritoneo quantità talvolta enorme di liquido, schiettamente ematico; fegato ora livido, ora rosso-scuro, nerastro: milza rosso-scura, per lo più aumentata in volume, spesso spappolabile; reni e capsule surrenali congesti. Bollicine di gas nella sottosierosa intestinale e gastrica, e nel cellulare retroperitoneale.

Nella cavità pleurica talvolta lieve quantità di liquido roseo; polmoni con focolai iperemici ora disseminati, ora confluenti.

Asse cerebro-spinale. — Quasi sempre notevolmente iperemico, diminuito di consistenza, edematoso alla base.

Arto posteriore. — Dal lato corrispondente alla parte inoculata le alterazioni che possono riscontrarsi a carico delle parti molli dell'arto sono variabili e legate al rapporto di distanza intercedente fra la località iniettata e la radice della coscia, non che alla durata della sopravvivenza dell'animale.

I fatti riscontrabili consistono in edema del sotto-cutaneo, aumento in volume e lieve arrossamento dei muscoli della radice dell'arto, presenza di liquido ematico in profondità, fra i muscoli e lo scheletro. I grossi vasi non presentano alterazioni macroscopicamente rilevabili, le piccole vene invece sono spesso trombizzate.

Gas, sotto aspetto di finissime bollicine specialmente negli interstizi muscolari e nella compagine stessa dei muscoli della sezione alta dell'arto. Nelle zone periferiche di questo i fatti descritti sono molto spesso poco apprezzabili o mancano.

Sangue. — Leucocitosi di grado talvolta spiccato, poichilocitosi, diminuzione del tasso emoglobinico, talvolta bene evidente.

L'inoculazione endomuscolare è seguita da effetti presso a poco identici.

9.° *Prodotti*. — La coltura in brodo-fegato, in brodo Martin-glucosato, in brodo-fegato-liquido ascitico, in brodo-fegato-sangue umano di 48-72 ore, filtrata alla candela Berchefeld si dimostra fornita di proprietà tossiche, le quali si esplicano variamente a seconda della via di propinazione. La cavia è l'animale tra i più sensibili: essa soccombe talvolta in 4-6 minuti dietro iniezione endovenosa di $\frac{1}{2}$ cc. di filtrato: per via sottocutanea si provoca diarrea, dimagrimento e fatti distruttivi, escarotici, e non infrequentemente morte dell'animale in profonda cachessia: in questo ultimo caso, notevole il depauperimento globulare (2.300.000-2.700.000 gl. rossi).

Il potere tossico della coltura filtrata si mantiene per lungo tempo e di potenzialità quasi invariata.

La filtrazione però, specie alla Chamberland, può togliere molto del potere tossico, come già ebbero a constatare LECLAINCHE e MOREL, WEINBERG e SÉGUIN e come potei confermare io stesso, a seconda degli stipiti e forse anche per condizioni che si sfuggono: ciò suggerì a WEINBERG e SÉGUIN l'idea di adoperare culture centrifugate, anziché filtrate. Il liquido così ottenuto difficilmente è amicrobico: l'esperienza al riguardo mi ha dimostrato che il liquido preparato colla centrifugazione protratta 2 ore può provocare la morte dell'animale.

Meno uniformemente sensibili della cavia sono il coniglio, il topo bianco, spiccatamente ricettivo il piccione.

La coltura filtrata ha potere emolitico spiccato: essa provoca la laccatura del sangue umano come la coltura in *toto*: NICOLLE, CESARI e RAPHAEL hanno sperimentato l'azione emolitica *in vitro* sui globuli rossi di cavia, coniglio, cavallo, montone ed uomo: il potere emolizzante però non sarebbe, secondo tali AA., costante ed uniforme per tutti gli stipiti. Nei tre campioni di *rib. settico* da me studiati, costatai un potere emolitico presso che uniforme: WEINBERG e SÉGUIN vengono alle stesse conclusioni: le culture giovani hanno potere emolitico più spiccato; la stagionatura non lo affievolisce sensibilmente e ciò, secondo WEINBERG e SÉGUIN, differenzerebbe il *r. settico* dal *B. perfringens*.

NICOLLE, CESARI e RAPHAEL hanno dimostrato il potere agglutinante del filtrato per i globuli rossi della cavia e del coniglio.

10.^o *Reazioni immunitarie.* — 1) Antitossina. — ROUX e CHAMBERLAND fino dal 1887 riuscirono ad immunizzare la cavia contro virus attivo, iniettando nella cavità addominale dosi ripetute e notevolmente alte di colture uccise a 110°. LECLAINCHE ottenne buoni risultati mediante l'iniezione endovenosa di sierosità virulenta; LECLAINCHE e MOREL, iniettando dosi progressivamente crescenti di coltura in brodo Martin, ottennero un siero preventivo ed anche curativo, antitossico ed antiinfettivo; del tutto recentemente WEINBERG e SÉGUIN confermarono il potere *antiinfettivo* del siero antitossico nel topo bianco e nella cavia: tale potere, ben manifesto *in vitro*, agisce come preventivo e anche come curativo, purchè l'iniezione del siero sia fatta entro la 5^a-6^a ora.

2) Agglutinine. — Si può ottenere un buon siero agglutinante ($1/1000$) nel coniglio, preparando l'animale mediante iniezioni sotto-cute di sedimento batterico, ottenuto centrifugando cultura di 8-12 ore, lavando con soluzione fisiologica e mantenendo a 75° per 15'. Occorre procedere con molta cautela in tale preparazione del sedimento, stante le eventualità della sporificazione precoce; si può sormontare la difficoltà, adoperando terreni poco favorevoli alla sporificazione. WEINBERG e SÉGUIN, per la preparazione del materiale batterico, si valgono di culture giovani, disintossicate colla soluzione di LUGOL.

Riassunto dei caratteri.

Germe anaerobio, mobile, cigliato, con spora centrale (il più spesso) o paraterminale, gram-positivo, debolmente proteolitico, fonde la gelatina lentamente, non digerisce il siero di bue; la caseina può in qualche stipite venire lievissimamente intaccata; discreto fermentatore degli zuccheri, *a chemismo mai putrido*; tossico e setticemico, patogeno per cavia, topo bianco, piccione, coniglio, topo di fogna, montone, cavallo ecc.; sperimentalmente provoca edema emorragico, enfisema per lo più moderato, arrossamento dei muscoli, versamento ematico nel peritoneo, spesso, ma non costantemente, slavatura del fegato, molto più raramente, della milza; si trova quasi costantemente in lunghi filamenti sulla superficie del fegato e nel liquido peritoneale, nel sottocutaneo invece è quasi sempre sotto forma di bastoncino sottile e variamente lungo, eccezionalmente sporulante *in vivo*: facile la sporulazione nei tessuti mantenuti in termostato, specialmente nei muscoli: visceri schiumosi post-mortem, di reperto non costante.

Nell'uomo, a differenza che nell'animale da esperimento, stando alle osservazioni di GHON e SACHS, di GOULD e di V. HIBLER,

il quadro anatomico è prevalentemente a tipo *enfisematico*. Vedremo in seguito i reperti risultanti dalle osservazioni stabilite durante la guerra europea.

La descrizione qui sopra offerta si riferisce al ceppo dell'Istituto Pasteur: essa concorda colle osservazioni di GHON e SACHS, stabilite nel 1903, in occasione dello studio di un germe isolato in un caso di gangrena gassosa umana, germe che dagli A.A. venne identificato col campione originale del *V. settico*, esistente nell'Istituto Pasteur. GHON e SACHS mantengono però al germe, da loro descritto, il nome di *B. oedematis maligni*, già adottato da R. KOCH. Essi non ritengono dovere conservare una distinzione fra il *B. oedematis maligni* o *vibrione settico* da un lato ed il *B. perfringens* dall'altro, basata sul quadro anatomico, in quanto il germe di PASTEUR-KOCH mostrasi capace di un quadro a tipo enfisematico prevalente; il che l'avvicina a quello del *B. perfringens*.

B. oedematis maligni di v. Hibler.

Secondo v. HIBLER corrisponderebbe al vero *B. oed. maligni* di R. KOCH e GAFFKY.

Riassumo i caratteri del germe, quali risultano dalla descrizione dell'A.

Il germe fu isolato dalla milza di un mulo, dai muscoli di una vacca e dalla terra di giardino: nel corso della guerra MISS ROBERTSON l'avrebbe riscontrato con frequenza nelle ferite. Già dicemmo però come le osservazioni del genere non siano esenti da critica e come WEINBERG e SÉGUIN abbiano potuto constatare, nelle culture studiate da MISS ROBERTSON, la presenza del *B. sporogeno* di METCHNIKOFF, del *B. bifermentans* di TISSIER. Per mio conto non posso che sottoscrivere al dubbio elevato dai due A.A. francesi, poichè in parecchi esemplari a me pervenuti sotto il nome di *B. dell'edema maligno* da parecchi Istituti, quasi sempre ebbi a constatare la presenza di anaerobi della putrefazione, poco o punto patogeni per la cavia e per i piccoli animali da laboratorio.

a) *Colonia*. — Appartiene al tipo aperto; si presenta però molto spesso sotto aspetto di un grosso nucleo centrale opaco, dal quale si dipartono corte diramazioni; talvolta però esistono diramazioni esili e lunghe, attorno ad un nucleo centrale irregolare, nero-opaco.

b) *Germe*. - 1.° *Forma e dimensioni*. — Bastoncino sottile ad estremità rotondeggianti, lungo da 2,5 a 3 μ , largo 0,5-1 μ ; sulla superficie dei visceri dell'animale, filamenti di varia lunghezza.

2.° *Colorabilità* — La resistenza al Gram è molto spiccata; assenza di granulazioni nel corpo bacillare.

3.° *Sporulazione* — È facile in tutti i mezzi di coltura, si osserva con frequenza nei tessuti superficiali, manca nelle sierose e sulla superficie dei

visceri. Le spore sono voluminose, rigonfie, ovoidali, subterminali o terminali, resistenti al riscaldamento prolungato, a 95-98°.

4.° *Mobilità*. — *Ciglia*. — Nelle colture il germe è spiccatamente mobile: meno, nei succhi organici. Le ciglia sono peritriche.

5.° *Caratteri colturali* — Essi possono venire così riassunti: fusione rapida della gelatina e del siero, digestione della caseina, alcalinizzazione ed annerimento del cervello, alcalinizzazione del latte e del siero. Dai terreni alcalinizzati e specialmente dal cervello emana odore di putrefazione.

Da questi dati si può desumere che il germe ha carattere *proteolitico* spiccato e *putrefacente*, il che lo differenzia nettamente dal *V. settico*, quale fu da me descritto.

6.° *Proprietà patogene*. — *Cavia*, *coniglio*, *topo bianco*, *piccione* sono gli animali sensibili; il *gatto* sarebbe refrattario.

Il quadro anatomico presentato dagli animali comprende, nelle *cavie* e nel *ratto bianco*: infiltrazione ed edema emorragico del cellulare sottocutaneo, colorazione rosso-scura dei muscoli, bolle di gas nel cellulare, peritoneo iniettato; nel *coniglio*, edema gelatinoso pallido nel sottocutaneo, muscoli rosei, zone emorragiche intramuscolari con liquido rosso-scuo, contenente spore.

Alla superficie del fegato di questi animali, frequenti i filamenti talvolta molto lunghi. Le lesioni hanno sovente carattere putrido.

Caratteristica pressochè costante dei reperti di autopsia è la presenza di filamenti, talvolta molto lunghi, sulla superficie del fegato, nel peritoneo e talvolta nei muscoli (*cavia*) e la frequenza di caratteri putrefattivi.

Quest'ultima caratteristica, individualizzante il B. di v. HIBLER, lo separa dal gruppo del *Vibrione settico*.

A lato di questo germe (B. X) v. HIBLER ha descritto anche un altro bacillo, isolato dalla milza e dalla sierosità di un individuo morto per gangrena gassosa in seguito a frattura esposta dell'avambraccio: l'A. dà per caratteri distintivi di questo germe (B. XI) l'*assenza* di forme filamentose alla superficie dei visceri ed in qualche caso la tendenza alla miolisi: esso però, come il B. X, è dotato di ricambio putrido; il potere patogeno è minore che pel B. X. Nel corso della guerra questo germe sarebbe stato trovato due volte da CHIARI (WEINBERG e SÉGUIN); ma la mancanza di ricerche batteriologiche esaurienti non autorizza il raffronto.

Per finire enumereremo i germi che si possono prestare ad una discussione nei rapporti del *vibrione settico* e cioè: *B. emphysematis maligni* di WICKLEIN, *B. oedematis maligni* gram-negativo, descritto prima da EISENBERG (1899) e poi da R. FRÄNKEL (1915), il B. II di GHON e SACHS, il B. di PFEIFFER e BESSAU ed il *B. carbonchio sintomatico*.

Il B. di WICKLEIN, isolato dall'A. nel 1891 in due casi di gangrena gassosa umana, si avvicinerebbe, secondo WEINBERG e SÉGUIN, al B. X di v. HIBLER per i suoi caratteri colturali e proteolitici: è però un germe scarsamente patogeno anche per

la cavia ed *innocuo* pel coniglio. La mancanza di una descrizione più esauriente non permette di trarre conclusioni sulla entità precisa del germe.

Il B. di EISENBERG-FRÄNKEL, oltre la gram-negatività, avrebbe anche, secondo FRÄNKEL, carattere proteolitico (digerisce il siero coagulato) e chemismo leggermente putrido.

Il germe isolato da FRÄNKEL in un caso di g. gassosa mortale, coagula il latte, digerisce la caseina ed il siero di sangue coagulato, i quali caratteri, assieme alla mancanza dell'agglutinazione crociata (FRÄNKEL) ne farebbero un germe distinto dal V. settico, mentre la gram-negatività lo differenzerebbe dal B. X di v. HIBLER.

Il B. II° di GHON e SACHS (1909) si differenzia dal *V. settico* soprattutto per la mancanza di ogni potere patogeno, per la tendenza alla formazione di catenelle nei liquidi di coltura, per il considerevole poliformismo, per l'assenza dell'agglutinazione crociata col *v. settico* (WEINBERG e SÉGUIN).

Il B. di PFEIFFER e BESSAU presenta analogia col B. di EISENBERG-FRÄNKEL, per la sua gram-negatività. Fra le proprietà biochimiche, da rilevarsi l'azione proteolitica sul siero di bue coagulato, che viene liquefatto.

Il B. del *C. sintomatico* fu da me studiato in due stipiti, dei quali uno proveniente dall'Istituto di Igiene dell'Università di Modena e prelevato dai muscoli neri di una vacca morta con tumefazione della coscia (C. I°), l'altro fornitomi dall'Istituto sieroterapico di Milano (C. II°).

Delle ricerche eseguite sui due germi riassumerò i punti decisivi:

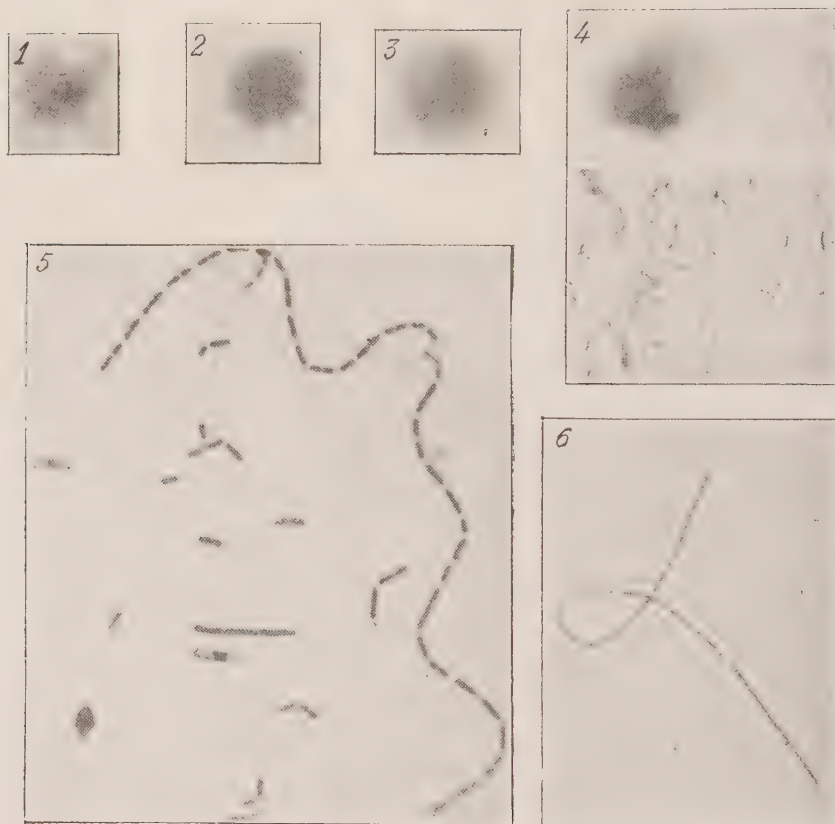
C. S. I°

La colonia si presenta il più spesso aperta (fig. 1); meno frequentemente è chiusa, lenticolare o rotonda (fig. 4, pag. 398), quest'ultima forma, trapiantata in brodo e di qui in agar, riproduce la forma aperta: la quale, per conseguenza, va considerata come la colonia tipo e come tale presenta strette analogie colla colonia del *V. settico*.

Il germe del *C. S. I°*, meno frequentemente del *v. settico*, presenta le caratteristiche forme a botte, ad arcolaio, a lancia; ma esso pure non ne è sprovvisto. Inoltre, come il *V. settico*, si presenta nel peritoneo ed alla superficie del fegato, in forma di filamenti (fig. 6, pag. 398). Filamenti bene spiccati furono da me trovati nei feti e nell'utero di cavia, inocolata con culture in brodo di C. S. I°.

Le proprietà culturali avvicinano pure i due germi ed alcune varianti, riscontrate nei riguardi della sporificazione e del potere saccarificante, non sono tali da autorizzare una netta separazione fra i due tipi.

Circa il potere patogeno, il *C. S. I*^o, meno virulento pel coniglio, non risparmia però questo animale e specialmente i soggetti giovani: d'altra parte è noto che anche fra gli stipiti vibrionici esistono differenze di patogenicità pel coniglio.



Nei riguardi immunitari, osserveremo:

1.^o Che il siero agglutinante *antivibrione settico* agglutina il *C. S. I*^o in diluizioni 1×50 .

2.^o Che il siero antitossico del *V. settico* si dimostra fornito di potere *neutralizzante* sulla coltura totale del *C. S. I*^o.

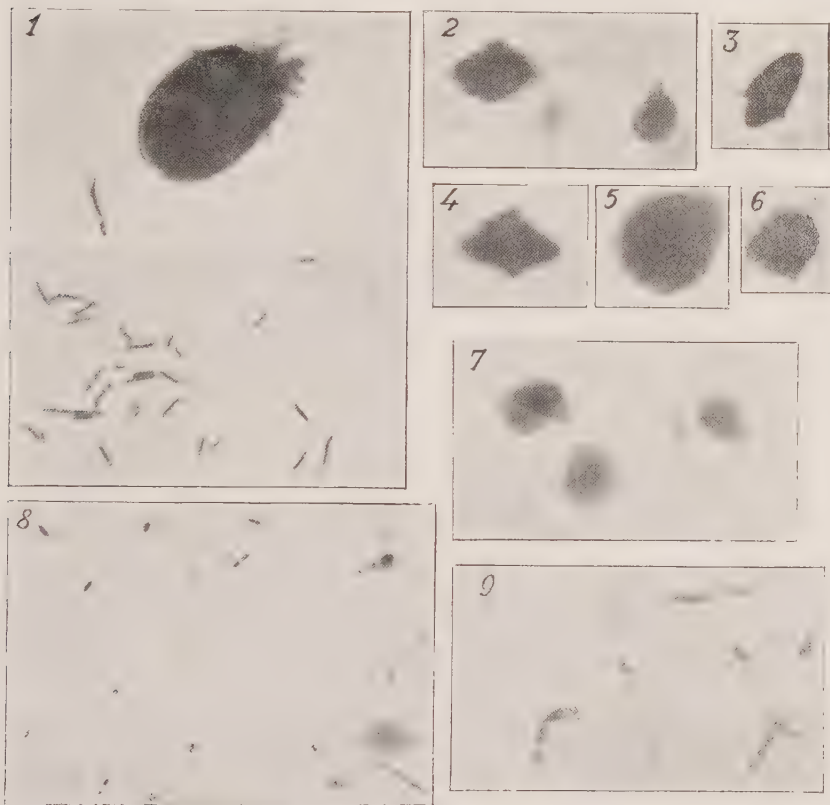
Sulla base di tali fatti appare opportuno riunire i due germi in un unico gruppo.

C. S. II°

a) **Colonia.** — Chiusa, a nucleo quasi sempre fortemente marcato e contorni ben netti (fig. 1, pag. 433); talvolta la colonia ha aspetto granuloso, con punti di rassomiglianza con quella di alcuni tipi di *perfringens*. Spesso dalla periferia si staccano filamenti corti, talvolta a ciuffo, più frequentemente a raggi; anche in questo caso però la colonia conserva il carattere di colonia chiusa o semichiusa. A notarsi costantemente:

1.° la mancanza di anello centrale;

2.° l'assenza di conformazione reticolare, quale abbiamo descritta a proposito del *vibrione settico*.



b) **Germe.** — *Forma e dimensioni* — Bastoncino più tozzo del *V. settico*, uniformemente colorabile (fig. 1), senza forme degenerative, facile a svilupparsi nei mezzi culturali, specialmente liquidi, con o senza glucosio (brodo, latte, siero di bue, bile, gelatina). Nei tessuti della cavia, tanto nel sottocutaneo che nel peritoneo ed alla superficie del fegato, numerose spore libere e paraterminali (fig. 8). La spora è oblunga, voluminosa, rigonfia (fig. 9),

pag. 433). Nel cellulare sottocutaneo il germe può trovarsi in corto filamento, nel peritoneo invece ed alla superficie dei visceri è sempre isolato o a due.

Le dimensioni del germe in agar sono le seguenti: lunghezza μ . da 4 a 8; larghezza μ . 0,90-1; nei mezzi liquidi e nel sottocutaneo, le dimensioni sono alquanto maggiori, nel peritoneo sono presso a poco quelle dell'agar.

Il germe resiste bene al Gram, è nettamente mobile, ma perde rapidamente la mobilità in goccia pendente.

Fra le proprietà colturali, a notarsi per uno stesso stipite ora la coagulazione della caseina con separazione di liquido limpido, ora la coagulazione della caseina a spugna, seguita da digestione parziale o da intorbidimento del liquido: acidificazione di grado non uniforme.

Siero e pappa di cervello non vengono acidificati: leggermente, la bile. Il siero ed il bianco d'uovo non vengono attaccati: la gelatina è fluidicata.

Proprietà saccarificanti: deboli.

Il C. S. II° è *patogeno* per la cavia, qualunque sia la via di inoculazione. Nel coniglio, per iniezione sottocutanea, la brodo-cultura alla dose di 0,25 cc. per 100 gr. di peso provoca edema transitorio; l'animale non presenta fenomeni generali degni di nota.

L'iniezione endovenosa, alla dose di 0,25 cc. per 100 gr. di peso, uccide i conigli giovani in 6 ore circa; all'autopsia si trova: scarso gas nel cellulare sottocutaneo; nel peritoneo, abbondante liquido lievemente roseo: milza nerastra, molle: fegato di colorito non modificato; reni congesti, con capsula facilmente distaccabile; nel cellulare retroperitoneale, qualche bollicina di gas.

Tubo gastro-enterico disteso; polmoni, di colorito e consistenza normale.

Nei tessuti e nel liquido peritoneale il germe si rintraccia con estrema rarità: nel tessuto epatico è isolato e mai a filamento.

Nei preparati di sangue a striscio, non si trovano germi: l'emocultura riesce positiva.

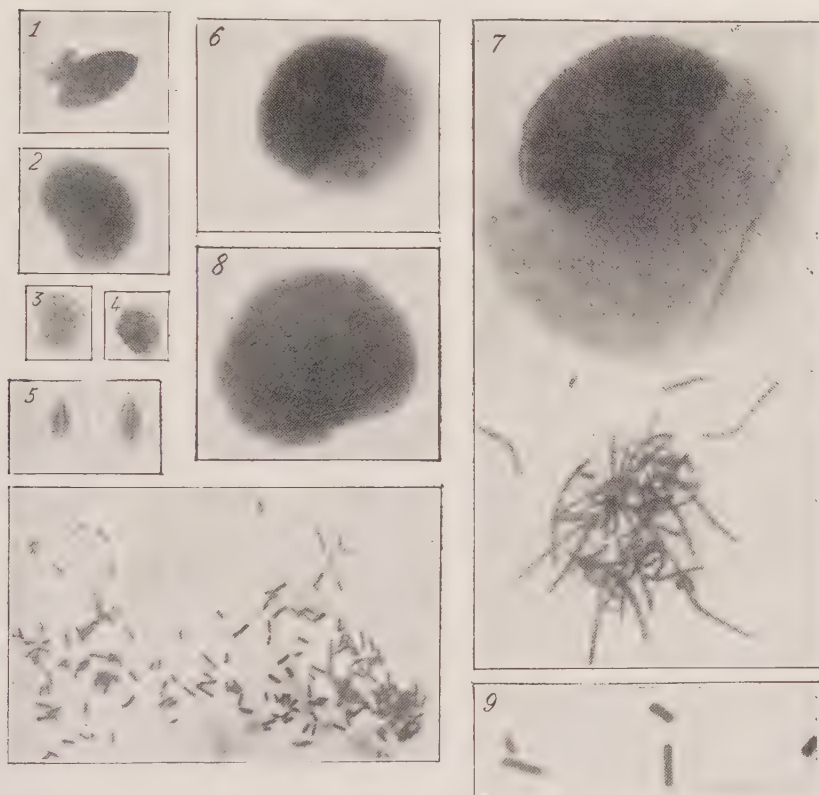
Prova dell'agglutinazione col siero antivibrione: negativa.

Prova della neutralizzazione. — Una delle cavi iniettate con siero anticarbonchio sintomatico + coltura in brodo di 48 ore venne a morte alla fine del secondo giorno, col quadro anatomico e reperto batteriologico caratteristico.

B. Aerogenes capsulatus. - B. Emphysematosæ. - B. Perfringens.

È un germe, ch , trovato per la prima volta da ACHALME nel 1891 nel liquido cefalo-rachidiano di un individuo morto per reumatismo, fu subito appresso bene studiato da WELCH e NUTTAL (1892), che lo isolarono dai tessuti di un tubercoloso e lo chiamarono *B. aerogenes capsulatus*. E. FR NKL l'anno appresso l'isolava in un individuo flemmonoso e lo denominava *B. phlegmonis emphysematosæ*; nel 1898 MUSCATELLO e GANGITANO in Italia ne fecero oggetto d'un pregevole lavoro e nello stesso anno VEILLON e ZURER, RIST, GUILLEMONT studiavano il germe rispettivamente nel pus di un ascesso peri-appendicolare e nel materiale purulento di piaghe putride, nel pus otitico, ed in un caso di gangrena gassosa tipica; nel 1899 HITSCHMANN e LINDENTHEL conducevano al riguardo precise e numerose ricerche. Le osserva-

zioni in seguito andaronsi moltiplicando, tanto che SIMON nel 1915 poteva riunire 175 casi di infezione gassosa e di flemmone gassoso. Il nome di *B. perfringens* dato da VEILLON e ZUBER nel 1898 è quello che specialmente in Francia ed in Italia é rimasto. Il germe è diffusissimo, nell'uretra normale, nell'intestino umano e di molti carnivori, nelle uretriti croniche, nei flemmoni gangrenosi del perineo: PASSINI e SITTLER l'avrebbero isolato dalle



feci di lattanti sani. Secondo TISSIER e METCHNIKOFF a questo germe dovrebbero riportarsi in buona parte i processi di putrefazione intestinale. Tale concetto merita di ulteriori conferme, e nel corso di questo nostro studio vedremo come l'attività proteolitica sia incostante e anzi come un vero ricambio putrido non sia negli attributi del germe in questione.

1. **Colonia.** — La coltivabilità é facile in tutti i terreni anaerobi: la forma è a tipo chiuso, rotondo, lenticolare, a cuore (*cuor giallo* di WEINBERG), a bordi netti, talvolta con un ciuffetto di peli corti, sotto forma di protuberanza. Vista a debole ingrandimento, la colonia è granulosa, si presenta irregolare per una specie di peluria fitta e corta. Qui sopra vengono raffigurate alcune delle forme da noi osservate. V'ha produzione notevole di

gas, che solleva la 3^a piastra ed è di odore forte, talvolta leggermente fetido, il più spesso acido.

Nella gelatina, le colonie si presentano presso a poco cogli stessi caratteri; la fusione del mezzo avviene di solito lentamente, ma costantemente. La liquefazione della gelatina fu argomento di controversia; noi crediamo che molto spesso sia subordinata al grado di sviluppo del germe nel mezzo nutritivo.

2. *Germe.* — 1.^o *Forma e dimensioni.* — In agar di 24 ore il germe si presenta come un bastoncino ad estremità arrotondate, isolato o a due individui, provvisto di una capsula; quando è appaiato o in catena (liquido peritoneale), le estremità che si guardano possono presentarsi meno rotondeggianti che negli articoli isolati; talvolta gli articoli sono disposti su di una linea ondulata o spezzata; raramente le forme isolate sono incurvate, comunemente si presentano diritte; spesso due articoli sono disposti a squadra.

Coi mezzi coloranti comuni è possibile allestire costantemente preparati molti dimostrativi; l'invecchiamento poco influisce sulla forma del germe.

Le dimensioni variano da 4 a 7 μ . di lunghezza per 1-1, 4 μ . di larghezza.

2.^o *Colorabilità.* — Molto facile nelle culture fresche e nei liquidi patologici; è alquanto meno pronta nelle colture vecchie: la fuxina basica in soluzione satura costituisce uno dei processi coloranti meglio raccomandabili. Il germe è Gram resistente, nelle colture vecchie però si può avere la decolorazione oppure una colorazione irregolare.

3.^o *Sporificazione e resistenza.* — Le spore mancano abitualmente. Secondo ACHALME la sporulazione avverrebbe nei mezzi poveri di zucchero; la soluzione fisiologica con bianco d'uovo sarebbe un terreno adatto; ACHALME descrive una spora sempre terminale, contrariamente a MUSCATELLO, il quale sostiene che la spora è centrale. Il siero coagulato di cavallo è consigliabile per alcuni stipiti; WEINBERG e SÉGUIN l'hanno trovato buon terreno di coltura per la sporulazione; essi descrivono una spora subterminale, o mediana, ovalare, il più spesso libera, sempre debordante dal corpo del bacillo. Nei due stipiti da me posseduti prima della guerra io non potei osservare la sporulazione: la constatai invece in uno degli stipiti provenienti dall'Istituto Pasteur, ma in modo incostante.

Contrariamente al bacillo, la spora del *perfringens* è in genere poco resistente al calore: tuttavia per alcuni stipiti si sarebbe constatato una resistenza all'ebollizione prolungata per 5-10 minuti e secondo RODELLA e v. HIBLER anche 90'.

Il riscaldamento è per alcuni stipiti l'unico mezzo di dimostrare la presenza delle spore. In linea generale però deve ritenersi che la sporulazione del germe costituisce l'eccezione; anche negli stipiti sporigeni, la sporulazione non fu mai osservata nelle sierosità organiche. Il germe resiste al riscaldamento a 80°-85°, anche per parecchi minuti.

4.^o *Mobilità.* — Il germe è immobile; si ammette da alcuni che esso possa essere dotato di una debolissima semovenza: deve trattarsi in tali casi di contrazioni protoplasmatiche. Non è possibile difatti mettere in evidenza la presenza di ciglia.

5.^o *Capsula.* — Può dimostrarsi con processi adatti; fra il corpo bacillare e la capsula esistono quasi dei sottili tramezzi colorabili.

Una cautela da non obliarsi è quella di evitare l'equivoco colla presenza di una capsula negativa, frequente a verificarsi nella colorazione con fuxina nelle colture in brodo e specialmente nei liquidi patologici.

6°. *Caratteri culturali.* — La coltivazione anaerobica liquida e solida è facile, fra 18° e 40°; le temperature piuttosto elevate sono però le meglio adatte.

Brodo al fegato glucosato. — Intorbidamento rapido, abbondante ed uniforme: il brodo può talora assumere un colore leggermente verdognolo; notevolissima la quantità di gas; talvolta, aereazione del frammento. Dal liquido emana quasi sempre odore butirrico o di sugna rancida; mai odore putrido. Molto lentamente il liquido si chiarifica, con formazione di un deposito nebuloso, soffice, al fondo. Nel brodo al fegato non glucosato la quantità di gas è alquanto minore.

Il germe è alquanto più sottile e lungo che nell'agar.

Reazione spiccatamente acida del mezzo.

Brodo Martin glucosato. — Caratteri presso a poco eguali ai precedenti; lo sviluppo è forse alquanto più rigoglioso.

Brodo al fegato con pezzettini d'uovo — L'uovo non viene digerito

Brodo al fegato + siero coagulato. — Il siero non viene digerito; talvolta appare molto lievemente intaccato.

Latte. — Coagulazione di solito entro le 24 ore, a spugna; sviluppo abbondante di gas. coagulo fortemente retratto, separazione di liquido limpido, la caseina non viene attaccata; acidificazione.

Sangue umano. — Sviluppo abbondante; rapida laccatura.

Liquido di Zacherl. — Viraggio lento in rosa.

Pappa di cervello. — Non viene annerita; gas in discreta quantità.

Muscolo umano. — Sviluppo abbondante, con gas; incostante sporificazione, acidificazione.

Muscolo bovino. — Sviluppo rigoglioso, rigonfiamento della fibra muscolare e rammollimento.

Agar al fegato in piastra. — Sviluppo rapido, con molto gas ed acqua di condensazione; tanto che si può avere il distacco della terza piastra e la rottura dell'agar in minuti frammenti; odore forte, acido, leggermente nauseante.

Agar VEILLON. — Rottura rapida dell'agar.

Agar alla pancreatina. — Sviluppo rapido con molto gas.

Siero coagulato di bue. — Può venire parzialmente intaccato; di solito, però, esso non viene sensibilmente modificato.

Gelatina al fegato in piastra. — Fluidificazione.

Gelatina in tubo glucosata 2%₀₀). — Fluidificazione rapida.

Gelatina al fegato non glucosata. — Sviluppo meno rigoglioso; fluidificazione più lenta.

7°. *Caratteri biochimici.* — Il germe non possiede proprietà proteolitiche spiccate e costanti: attacca però leggermente le sostanze albuminoidi, essendo provvisto di una diastasi a tipo litico: emulsiona inoltre e saponifica i grassi. La formazione d'indolo è controversa: io non potei constatarla negli stipiti da me studiati. Su gli zuccheri ha potere fermentativo attivissimo; i vari stipiti fanno fermentare *glucosio*, *levulosio*, *saccarosio*, *maltosio*, *lattosio*

amido, destrina, inulina. «Dalla scomposizione delle sostanze idrocarburate risultano HCO^2 e acido acetico, propionico, butirrico, lattico.

SIMONDS distingue i vari tipi di *perfringens* a seconda del loro modo di comportarsi di fronte all'inulina ed alla glicerina, in quattro classi e cioè:

- 1) Nessuna fermentazione, sporulazione nei due mezzi.
- 2) Fermentazione della sola glicerina e sporulazione nella sola inulina.
- 3) Fermentazione dell'inulina, non della glicerina, sporulazione in quest'ultimo mezzo.
- 4) Fermentazione dei due mezzi, senza alcuna sporulazione.

3°. *Proprietà patogene.* — La cavia, il topo bianco, il piccione sono gli animali di laboratorio più sensibili; il coniglio offre maggiore resistenza tanto che secondo G. BULL e J. PRITCHETT occorrono forti dosi per via endovenosa per ucciderlo; l'iniezione sottocutanea o intramuscolare non è quasi mai seguita da esito mortale, ma bensì da formazione di enfisema dei tessuti. Nella riproduzione sperimentale vedremo però in qual modo anche il coniglio sia sensibile alle iniezioni sottocutanee di cultura di alcuni stipiti.

L'inoculazione endovenosa uccide l'animale in 14-20 ore alla dose di 2 cc. per animali di 750-800 gr.; alcuni stipiti però parrebbero sprovvisti di azione anche per questa via (PICCHI).

Nel piccione la morte avviene entro le 24 ore; PICCHI avrebbe riscontrato tipico fegato schiumoso senza lesioni cellulari: l'inoculazione intramuscolare invece sarebbe incostantemente seguita da fegato schiumoso; nei casi positivi l'autopsia fu immediata (BULL, PRITCHETT).

Il cane reagisce con rialzo termico e fatti locali (gas nel punto d'innesto-PICCHI); talvolta presenta diarrea e spesso rifiuta il cibo. Io, come dirò più innanzi, constatai una lesione molto interessante con un tipo di germe del gruppo *perfringens* in un cane inoculato sotto cute con bacilli vivi.

Il gatto pare refrattario del tutto alla iniezione endovenosa, sottocutanea ed endoperitoneale (PICCHI).

9°. *Prodotti.* — Le proprietà emolitiche delle colture in brodo non sono uniformi per i vari ceppi: talvolta scarse o mancanti, si manifestano tal'altra ora colla distruzione di globuli rossi, ora col dissolvimento dell'emoglobina. Degli 11 tipi da me studiati, sette dimostrarono spiccato potere emolitico in vitro pei globuli rossi di cavia e di coniglio: adoperai brodo-cultura di 12-20 ore.

La maggior parte degli AA. si trovano d'accordo nell'ammettere tali proprietà del germe: così HERTER, HEWLET, KAMEN, P. SIMONDS, COSTA e TROISER, OURANOFF; il potere emotossico andrebbe, secondo questi ultimi, distrutto col riscaldamento per 30' a 60': fatto non accettato da HERTER, il quale l'avrebbe visto persistere anche dopo un riscaldamento molto più prolungato.

WEINBERG e SÉGUIN, mentre confermano la esistenza del potere emolitico per la maggior parte degli stipiti da essi presi in esame, ne mettono in rilievo la labilità, già manifesta nelle colture di 48 ore.

Non per tutti gli stipiti è possibile ottenere una *tossina* ed i tentativi in questo senso sono spesso riusciti vani a parecchi AA. tra i quali HIRSCHMANN e LINDENTHAL, IUNGANO; altra volta il filtrato ha potere tossico molto debole. Con qualche stipite io sono riuscito a preparare un filtrato

tossico per la cavia, adoperando brodo ascetico glucosato all'1 ‰ e brodo Martin glucosato all'1 ‰, secondo consigliano WEINBERG e SÉGUIN.

L'inoculazione in vena in dose di 2, 5-3 cc. produce la morte della cavia (350-400 gr.) con una sintomatologia che ricorda da vicino quella delle inoculazioni di culture in *toto* (periodo irritativo con scosse e qualche tremore, fenomeni paralitici consecutivi): la morte sopravviene talvolta in qualche ora; nelle cavie che sopravvivono più a lungo hanno il predominio i disturbi respiratori e talvolta convulsivi.

L'inoculazione sottocutanea determina la formazione di un'escara molle con sopravvivenza dell'animale. PICCHI, sperimentando nel cane con colture in siero di latte, uccise col calore o col cloroformio oppure filtrate per candela di Chamberland, ha riscontrato lieve edema ed assenza di gas: l'edema è stato alquanto più notevole nelle inoculazioni di culture uccise col cloroformio che non in quelle prive dei corpi bacillari.

Nel topo la morte avviene rapidamente con dispnea e convulsioni dietro iniezioni di cultura centrifugata (WEINBERG e SÉGUIN).

Nel montone e nel cavallo l'inoculazione sotto cute, di notevole quantità di cultura centrifugata, provoca edema ed elevamento di temperatura (WEINBERG e SÉGUIN). KLOSE, BULL e PRITCHETT, studiarono ceppi tossici del germe; questi due ultimi descrivono le gravi alterazioni del sangue, conseguenti alle inoculazioni endovenose di colture centrifugate; tali alterazioni mancano o sono molto meno considerevoli quando l'inoculazione viene eseguita nei muscoli; il piccione in tal caso muore col quadro presso a poco eguale a quello della cavia. Il filtrato riscaldato a 70° per mezz'ora perde la sua tossicità.

Da quanto precede resta stabilito che al germe è legato un potere tossico di grado rilevante; sì l'emotossina che la tossina solubile però non si ottengono costantemente; esse non sono di azione uniforme. Si spiegano così le controverse di risultati fra le esperienze di parecchi AA. tra i quali gli uni, come JUNGANO e DISTASO non riuscirono a mettere in evidenza il potere tossico dei filtrati alla Berkefeld delle colture uccise, anche per ceppi virulentati con passaggi ripetuti nell'animale ricettivo, mentre altri, quali ad esempio KORENTCHEVSKY, avrebbero ottenuto da uno stipite, isolato dal cane, una tossina letale pel coniglio alla dose di 1 cc. per kilo, sempre meglio attiva dopo il passaggio del germe in animali più resistenti all'infezione (coniglio).

Il quadro anatomo-patologico nella cavia inoculata sotto cute è caratteristico: formazione di enfisema che talvolta solleva tutta la cute dell'addome e del torace; cute rosso-scura, talvolta verdognola o verde-nerastra, qua e là disepitelizzata, muscoli spesso estesamente digeriti, tanto che a livello del punto d'iniezione sulla parete addominale, il peritoneo può venirsi a trovarsi in immediato contatto colla pelle; inoltre, in casi non infrequenti, la parete addominale può essere digerita a tutto spessore con formazione di una breccia muscolo-aponeurotica-sierosa, attraverso la quale si fanno strada le anse intestinali: uno stipite dell'Istituto Pasteur fornitomi da WEINBERG, mi fornì quasi costantemente un risultato di tal genere; l'animale presenta allora una enorme intumescenza, costituita da buona parte della matassa intestinale procidente sotto la cute.

A differenza che negli animali inoculati con cultura di *V. settico*, i muscoli

hanno colorito livido-sporco e presentano placche giallastre o grigie: nelle parti più declivi, come agli inguini ed alle ascelle, il gas, molto abbondante, è commisto a sierosità scura.

Tale quadro anatomico è l'espressione abituale degli effetti provocati coll'inoculazione di colture in brodo di 24-72 ore; talvolta però si può avere, invece dell'infiltrazione gassosa caratteristica, un edema pastoso dei tessuti di tutta la parete addomino-toracica, con sierosità rosso-vinosa, simile a quella degli animali inoculati con *v. settico*: tale constatazione però è rara (vedi appresso).

Nel *topo* localmente predomina l'edema; la cute è verde, con macchie picce disseminate: l'animale muore in rapida setticemia.

10.^o - *Agglutinine*. — Non è facile ottenere un buon siero agglutinante; vi si può pervenire dopo lungo tempo e dietro iniezioni ripetute di forti quantità di germi. Nel coniglio io sono riuscito ad ottenere un siero agglutinante all' 1×100 : l'agglutinazione fu però palese solo per lo stesso stipite, come già era riuscito a WERNER, ROCCHI, WEINBERG e SÉGUIN pervennero ad ottenere nel cavallo un siero agglutinante dall' 1×1000 all' 1×2000 : anche questa volta l'agglutinazione si ebbe solo per lo stipite che aveva servito all'immunizzazione. Per le prove di identificazione, quindi, meglio dell'agglutinazione, pare debba corrispondere il metodo della neutralizzazione con siero anti-tossico ed anti-infettivo.

Quanto vengo da esporre inquadra il germe in un gruppo con caratteri abbastanza bene delineati e così integrabili: Anaerobio, immobile, senza ciglia, capsulato, abitualmente asporigeno. Grampositivo, attivo fermentatore degli zuccheri, non uniformemente proteolitico, prevalentemente setticemico, patogeno per la cavia, topo, piccione, meno pel coniglio, il quale verso alcuni ceppi è del tutto refrattario.

Nei tessuti il quadro anatomico consiste comunemente in miolisi ed enfisema; nelle sierose non si riscontrano filamenti, ma talvolta brevi catenelle. Secondo alcuni AA. può dare in *vivo* organi schiumosi o, almeno, l'aereazione, specialmente del fegato, che può essere un fatto constatabile già all'autopsia precoce (FRÄNKEL, PICCHI) nelle cavie e nel piccione. Nell'uomo, come nell'animale da esperimento, le lesioni non hanno carattere putrido, solo incostantemente si ha sviluppo di H_2S . La forma tossica, molto più rara, provoca edema e morte, prima degli altri fatti locali (miolisi-gas). L'emocultura nell'animale e nei casi mortali umani è sempre positiva.

b) Periodo bellico.

Durante la guerra furono descritti vecchi e nuovi germi, ritenuti volta a volta specifici della infezione gassosa. Trala-

sciando pel momento di prendere in considerazione quelli non riconosciuti decisamente patogeni per gli animali da esperimento, riassumerò le notizie apparse sulla letteratura, in particolare guisa quella francese, al riguardo di germi volta a volta isolati dalle ferite gassose.

Anaerobi. - *B. bellonensis*.

Nella seduta del 12 giugno 1915 della Società di Biologia di Parigi, T. SACQUÉPÉE, riferiva più dettagliatamente sopra i caratteri di un germe da lui isolato in ferite che presentavano il tipo clinico dell'edema gassoso maligno, germe che l'A. aveva fatto oggetto di comunicazioni precedenti « Presse médicale », 27 maggio 1915; « Soc. de chirurgie », 1 aprile 1915) e che soltanto molto più tardi (4 maggio 1916, « Presse médicale ») egli denominava *B. bellonensis*.

a) Colonia. — In agar VEILLON di 24 ore, tipo di colonia a mandorla, visibile ad occhio nudo, alla lente, massa centrale di colore bruno-giallastro più o meno carico, contornata da un'aureola più chiara, a bordi leggermente seghettati o festonati: nel tipo di colonia che l'A. chiama « da adattamento » dal nucleo centrale si irradiano filamenti più o meno numerosi. Col progredire dello sviluppo talvolta la colonia prende aspetto bernoccolato.

In gelatina glucosata lo sviluppo è lento e la colonia raggiunge il suo pieno sviluppo soltanto dopo 10-20 giorni. Da principio trattasi di piccole masse rotonde od ovoidi, biancastre, con centro pallido, bordo liscio o leggermente granuloso. Più tardi, alla periferia compaiono dei filamenti corti e radi, raramente lunghi, che possono anastomizzarsi anche con quelli delle altre colonie. Tra queste, alcune possono presentarsi con l'aspetto di fiocco d'ovatta.

b) Germe. — 1.° *Forma e dimensioni.* — Bacillo diritto, più raramente curvo (sierosità e tessuti patologici), polimorfo nelle culture liquide, lungo da 3 a 10 μ ; più largo del *V. settico*, ad estremità leggermente sinuose o del tutto rotonde, per lo più isolato o in diplo-bacillo; talvolta in filamento o in catenelle; nel peritoneo delle cavie mancano le forme filamentose. Il germe va incontro a rapida degenerazione e coll'invecchiare diventa di difficile colorazione.

2.° *Colorabilità.* — Gram-positivo, specialmente nei tessuti; il germe resiste meno facilmente al Gram nelle culture vecchie.

3.° *Sporificazione.* — Facile nel brodo non glucosato. Le spore ovalari si trovano anche nei tessuti dell'uomo e dell'animale. Abitualmente sono sub-terminali, raramente mediane o terminali.

4.° *Mobilità e ciglia.* — Nei prodotti patologici la mobilità è molto scarsa,

nella cultura il germe è immobile: l' A. però non si pronuncia recisamente sulle proprietà della semoveaza.

Le ciglia peritriche sono in numero da 1 a 8; più raramente arrivano a 20, ora semplici, ora biforcute ed anastomosate.

5.° *Capsula*. — Presente, ma difficile a colorarsi.

6.° *Caratteri culturali*. — Brodo glucosato-bianco d'uovo. Odore putrido, formazione di fiocchi sospesi nel liquido e chiarificazione successiva, sporulazione abbondante.

Brodo Martin - Bianco d'uovo non glucosato. — Intorbidamento uniforme dapprima, poi comparsa di fiocchi e graduale chiarificazione.

Brodo Martin - Bianco d'uovo glucosato. — Intorbidamento più persistente, sviluppo rigoglioso.

Latte. — Aggiungendo solfuro di calcio (in assenza del vuoto) si ha acidificazione, coagulazione in 48-72 ore, indi digestione lenta della caseina.

Gelatina glucosata. — Liquefazione molto lenta.

7.° *Caratteri biochimici*. — Proteolitico debole; digerisce la caseina, ma non costantemente. Fermenta *glucosio*, *maltosio*, *galattosio*, e *levulosio*, poco o punto il *saccarosio*, la *mannite* ed il *lattosio*.

8.° *Proprietà patogene*. — Il germe uccide la cavia in dose di 0,5-2 cc. di brodo-cultura glucosata di 24 ore per iniezione sottocutanea o intermuscolare: la morte avviene in 15-36 ore. Il quadro anatomico comprende due tipi di lesioni a seconda della tossicità del germe. Il germe fortemente tossico provoca edema gelatinoso esteso, incolore o appena roseo, senza alterazioni muscolari o appena appariscenti: poco o niente gas. Il germe meno tossico dà infiltrazione gassosa locale, necrosi, setticemia; talvolta le lesioni si avvicinano a quelle del v. settico. Nel peritoneo rari germi senza filamenti, isolati o in corte catenelle. L'emocultura del cuore risulta spesso negativa. Il germe, oltre che per la cavia, è patogeno per il coniglio e per il topo.

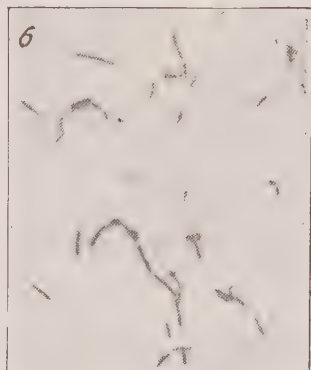
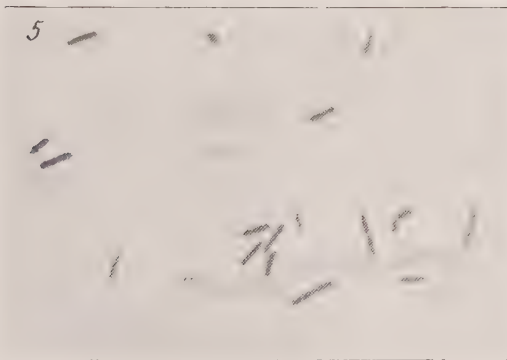
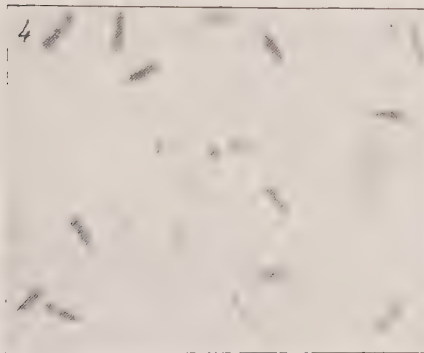
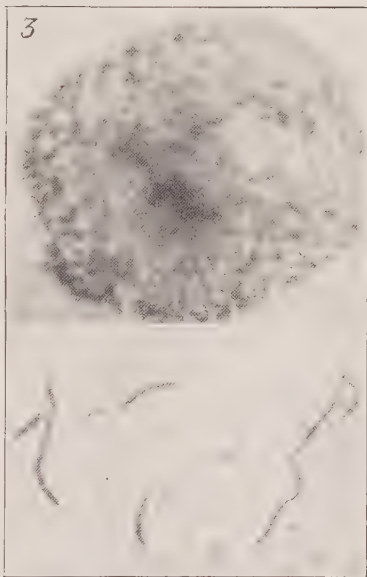
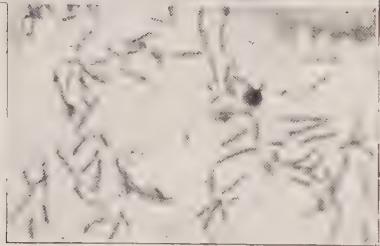
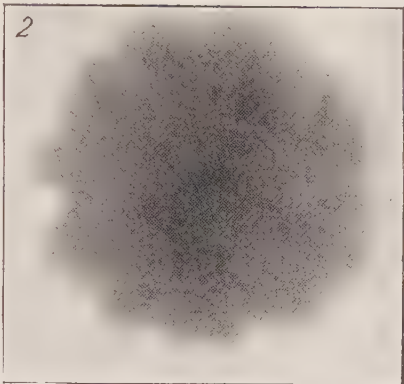
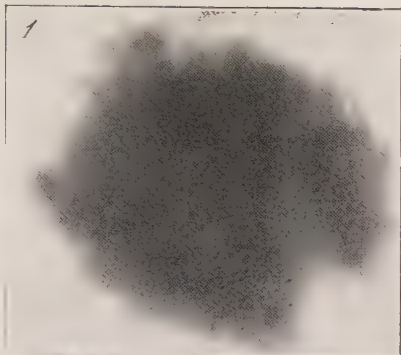
9.° *Prodotti*. — La tossina, ottenuta colla filtrazione di brodo-cultura di 3-6 giorni, è mortale per la cavia alla dose di 0,5; è *termolabile* (a 60°, per 30'). Le lesioni anatomiche da essa provocate consistono in edema gelatinoso, pallido, locale ed a distanza, con qualche bollicina di gas.

L' A. è riuscito a preparare nel coniglio un siero immunizzante anti-tossico.

Riassumendo: Germe cigliato, molto scarsamente mobile nei liquidi patologici, immobile nelle colture, Gram-resistente, sporulato, a leggero chemismo putrido, prevalentemente tossico, ma anche setticemico, provoca lesioni specialmente a tipo di edema gelatinoso, pallido, più raramente gas ed edema emorragico; assenza di filamenti nelle sierose.

B. oedematiens.

Presso a poco all'epoca della 1.^a comunicazione di SACQUÉPÉE, WEINBERG e SÉGUIN segnarono un altro B. anaerobio (28 mag-



gio 1915), che nel corso della guerra veniva trovato anche da altri. WEINBERG e SÉGUIN desumono i caratteri del germe da 15 campioni isolati nelle ferite di guerra.

a) **Colonia.** — Nell'agar VEILLON nitrato, di 14-48 ore, centro giallastro, opaco, irregolare, contornato da filamenti corti ed ineguali. Gradualmente avviene chiarificazione del centro e formazione di una corona abbondante di filamenti. A lato di questo tipo abituale, esistono colonie lenticolari con grosso mazzo di filamenti (colonia a granata).

In agar in superficie le colonie sono molto fini, piatte, grigio-bluestre, trasparenti, a contorni irregolari.

In gelatina glucosata al 2×1000 : colonia a fiocco, con arborescenza finissima; la gelatina non viene fluidificata.

In gelatina glucosata al 2×100 , la fluidificazione è rapida. La produzione di gas sì in agar che in gelatina è molto modesta.

b) **Germe** — 1°. *Forma e dimensioni.* — Il germe comunemente è leggermente ricurvo a C e ad S, isolato o a due; talvolta in catenelle, eccezionalmente in veri filamenti: misura da 4,5 a $10 \times 0.8-1$, rare le forme corte. Nel peritoneo della cavia mancano i filamenti ed il germe si presenta a forma diplo-bacillo: ugualmente, nei tessuti umani.

2°. *Colorabilità.* — Gram-resistenza ben manifesta nelle colture molto fresche; invece nelle colture in brodo di 24 ore, qualche forma rimane già decolorata: le forme vecchie sono gram-negative.

3°. *Sporificazione.* — Facile: le spore, ovali e voluminose, sono paraterminali: esse si riscontrano nei tessuti dell'animale e dell'uomo e sono molto resistenti al calore (a 100° per 30').

4°. *Mobilità - Ciglia.* — Nei comuni mezzi di esame il germe appare immobile: effettivamente però esso è dotato di movimenti elicoidali e di leggera ondulazione, se l'esame viene compiuto al riparo completamente dall'ossigeno, prelevando il materiale di una coltura molto giovane mediante tubetti capillari, che vengono poi chiusi alla lampada. Le ciglia sono numerose, lunghe ed intrecciantisi molto strettamente: talvolta esistono anche ciglia giganti.

5°. *Caratteri culturali.* — La coltivazione del germe non è agevole ed occorre un mezzo strettamente anaerobico e di recente preparazione.

Brodo Martin glucosato. — Intorbidamento rapido, ma non molto abbondante, chiarificazione in 48 ore, con formazione di un considerevole deposito, costituito quasi totalmente da spore; la produzione di gas è mediocre: l'odore è fetido.

Brodo Martin non glucosato. — Sviluppo meno abbondante; il bianco d'uovo eventualmente aggiunto non viene intaccato.

Latte. — Acidificazione e gas abbondante: coagulazione lenta in 5-30 giorni: dissolvimento del coagulo in grumi più piccoli, peptonizzazione parziale della caseina.

Siero di bue coagulato. — Non viene modificato.

Brodo con carne. — Sporulazione abbondante, lieve rammollimento della carne.

6°. *Caratteri biochimici.* — Fermenta glucosio, levulosio e maltosio.

7°. *Proprietà patogene.* — Cavia, ratto, topo e coniglio sono gli animali ricettivi; qualche stipite può riuscire non patogeno. L'inoculazione endovenosa di coltura di brodo di 24 ore provoca la morte con raffreddamento rapido, dispnea, convulsioni preagoniche.

All'autopsia: placche di necrosi nei visceri, iperemia dell'intestino e delle capsule.

L'inoculazione sottocutanea od intramuscolare di brodo-coltura del tipo tossico riesce mortale per la cavia con fatti di edema pallido, lattaceo, duro, invadente tutta la parete addominale: il liquido di edema è gelatinoso, pallido ed incolore o lievemente tinto in rosa: colla iniezione endo-muscolare i muscoli, iperemici, sono infiltrati da lieve quantità di gas: nella inoculazione sottocutanea il gas manca; nelle sierosità dei tessuti i germi sono scarsi o mancano: l'emocoltura riesce negativa (WEINBERG e SÉGUIN).

Nel tipo *virulento* il quadro è alquanto diverso; si ha cioè edema emorragico con gas nel sottocutaneo e nello spessore dei muscoli, i quali sono rosso-violacei, i germi abbondano nel sottocutaneo, nei muscoli, nel peritoneo, nei visceri; l'emocoltura riesce positiva.

Le lesioni non hanno carattere putrido, non esiste miolisi. Nel ratto le lesioni hanno specialmente il carattere edematoso, l'edema è gelatinoso, il gas scarissimo o del tutto assente; i germi in numero molto scarso; nel peritoneo possono mancare del tutto.

Nel coniglio e nel topo bianco le lesioni hanno presso a poco il carattere di quelle della cavia.

Il potere patogeno dura più a lungo nel tipo *tossico* che non nel *virulento*.

8°. *Prodotti.* (1). — Le colture in brodo contengono una tossina molto attiva, la quale, iniettata in vena, uccide la cavia con sintomi analoghi a quelli della coltura in toto. La morte però non sopravviene che al termine di qualche ora, anche dietro inoculazione di dosi forti (2-3 cc.).

I fenomeni, di solito, si manifestano soltanto poco prima della morte e consistono specialmente in dispnea ed ipotermia.

L'inoculazione sottocutanea di dose mortale (da $\frac{1}{4}$ a 1 cc) provoca edema gelatinoso, bianco, senza gas, invadente e morte in 48 ore; le dosi non mortali provocano edema transitorio, comparsa di macchie emorragiche e talvolta formazione di escara.

Molto sensibili all'inoculazione sottocutanea della tossina sono pure il *topo bianco* (1/800 - 1/1600), il *coniglio* (1 cc.), il *montone*; il cavallo presenta sempre fenomeni gravi.

9°. *Reazioni immunitarie.* — WEINBERG e SÉGUIN hanno ottenuto una buona *antitossina* nel coniglio, montone e cavallo: il siero antitossico riesce anche antiinfettivo.

Il cavallo fornisce un siero antitossico preventivo, di forte attività; ha anche proprietà curative, purché usato a poca distanza dall'inizio dell'infezione.

(1) Nella coltura totale è dimostrabile una *emotossina* più debole di quella del *perfringens* e del *vibrione settico*.

La dimostrazione di agglutinine riesce abbastanza facile; l'agglutinazione però è specifica pel campione utilizzato nella preparazione del siero: a notarsi la facile auto-agglutinazione del germe

B. del « Gasoedem ».

Nel dicembre 1915 ASCHOFF descriveva un germe isolato dalle ferite gassose, che secondo l'A. sarebbe il vero agente dell'edema maligno umano.

a) *Colonia*. — In agar profondo, colonie ben nette.

In gelatina. — Colonie con un centro dal quale si dipartono filamenti raggiati; fusione quasi costante del mezzo.

b) *Germe*. — 1°. Bacillo corto e spesso, isolato, a due o in corte catenelle, rarissimi i filamenti. Nel liquido di edema e nei muscoli dell'animale i germi sono scarsi; alla superficie del fegato eccezionali le forme filamentose; per lo più invece germi accoppiati.

2°. *Colorabilità*. — Germe gram-positivo, ma solo nelle colture fresche

3°. *Sporificazione*. — Nei tessuti e nel liquido di edema le spore sono ora abbondanti, ora scarse: fra i terreni di coltura parrebbe che il brodo di cervello fosse il più adatto alla formazione delle spore: nel latte la sporulazione manca. Le spore per lo più paraterminali, più raramente centrali, sono ovali.

4°. *Mobilità*. — *Ciglia*. — Germe lievemente mobile nei liquidi patologici, incostantemente e lievissimamente mobile nei liquidi di coltura; le ciglia, numerose, sono a tipo peritrico.

5°. *Caratteri culturali*. — Il germe, anaerobio stretto, ha lieve ricambio putrido, coagula il latte, senza digerire la caseina; non annerisce il cervello, digerisce lentamente, ma non costantemente, la gelatina.

6°. *Caratteri biochimici*. — Fermenta il saccarosio.

7°. *Proprietà patogenie*. — Sono manifeste per *cavia*, *coniglio*, *topo*, *ratto*, *cavallo* e *bue*.

Nella *cavia*, la lesione locale ora ha carattere unicamente di edema grigio-pallido, gelatinoso, lievemente roseo, senza gas: ora di enfisema pronunciato con edema scarso.

Nei tessuti, germi sporificati, isolati o a due; nello striscio del fegato, qualche volta, filamenti: il germe non si riscontra nel sangue *in vivo* che eccezionalmente.

Nel *cavallo* e nel *bue*, le lesioni locali hanno carattere prevalentemente edematoso, il gas molto scarso o nullo.

8°. *Prodotti*. — Tossina poco attiva.

9°. *Reazioni immunitarie*. — L'A. ottenne un siero antiinfettivo dal cavallo, preparato con iniezioni di coltura in brodo scaldata a 56° per tre giorni di seguito e per parecchie ore. Questo siero si dimostrò dotato di potere immunizzante per la *cavia*.

CONSIDERAZIONI NEL RIGUARDO DEI TRE GERMI DESCRITTI.

Non può sfuggire, a chi legge, un certo grado di analogia fra il germe di SACQUÉPÉE, di WEINBERG e di ASCHOFF. Tutti e tre hanno in comune la patogenecità per i piccoli animali da laboratorio ed, almeno fino ad un certo punto, i caratteri colturali ed anatomico-patologici. Tutti e tre sono prevalentemente di tipo tossico, non danno facilmente setticemia; tanto nell'uomo che nell'animale da esperimento, le lesioni provocate consistono prevalentemente in edema, più raramente in edema accompagnato da notevole quantità di gas.

In tutti e tre infine, a lato del tipo *tossico*, esiste anche il *virulento*.

Nei riguardi del bacillo di SACQUÉPÉE e di quello di WEINBERG, la controversia parve dapprima delucidata colle ricerche di VEILLON e LOISEAU, i quali, confrontando il *B. bellonensis* col *B. oedematiens*, trovarono caratteri distintivi, specialmente basati sull'aspetto delle colonie in agar e sul tipo delle lesioni anatomico-patologiche nell'animale. Riportandoci però alla successiva descrizione che SACQUÉPÉE, nel 1916, fa delle colonie in agar profondo alla VEILLON, il dubbio non viene del tutto rimosso, poichè a lato di colonie a tipo chiuso egli accenna anche a colonie a tipo filamentoso (*forma di adattamento e di degenerazione*), che potrebbero avvicinarsi alle colonie del *B. oedematiens*. Quantunque poi questo ultimo abbia il tipo della colonia aperta, a batuffolo di ovatta, non è a dimenticare che WEINBERG e SÉGUIN descrivono anche colonie atipiche, lenticolari, a granata, anche per il *B. oedematiens*.

Per le lesioni anatomiche, la differenza fra i due germi consisterebbe, secondo VEILLON e LOISEAU, prevalentemente nel fatto che il *B. bellonensis* provoca per lo più edema roseo accompagnato da lesioni muscolari. Osserviamo però che certi stipiti di *B. bellonensis* danno un edema chiaro pallido del tutto simile a quello dell'*oedematiens*, senza alterazioni muscolari. Il dubbio di una eventuale parentela fra i due germi non parrebbe quindi del tutto eliminato e le conclusioni di VEILLON e LOISEAU, antecedenti alla comunicazione fatta da SACQUÉPÉE nel Febbraio 1916, nella quale l'A. descriveva caratteri anatomico-patologici diversi da quelli in precedenza resi noti, sembrerebbero suscettibili di revisione. WEINBERG e SÉGUIN stessi si

rendono conto di questo fatto, quando esprimono il dubbio che SACQUÉPÉE, descrivendo, nel 1916, un tipo di lesione anatomica consistente in edema gelatinoso, incolore, diffuso, abbia accomunato sotto il nome di *B. bellonensis* germi diversi.

Per quanto riguarda il *B. del Gasoedem*, dirò come la maggior parte delle particolarità segnalate da ASCHOFF potrebbe autorizzare ad omologarlo col *B. di Weinberg e Séguin* se non ci rendessero alquanto dubitosi i caratteri della colonia in agar, i quali pel *B. di Aschoff* avrebbero il tipo chiuso. Vedremo più avanti il valore che in genere deve essere assegnato ad alcuna tra le più stridenti differenze nella morfologia della colonia; osserviamo solo per il momento che, anche nell'eventualità di un polimorfismo, esiste sempre un tipo prevalente, fondamentale al quale si informa la diagnosi batteriologica di un dato germe; la forma chiusa quindi della colonia del *B. Gasoedem*, se di carattere costante, non potrebbe venire misconosciuta nel suo valore diagnostico. Faccio osservare però che i caratteri della colonia in gelatina (centro rotondo con corona di filamenti) diminuiscono il significato del reperto segnato per la colonia in agar.

Secondo WEINBERG e SÉGUIN il *B. del Gasoedem* diversificherebbe dal *B. oedematiens* soltanto per la mancanza di spore nel latte e per il fatto che ASCHOFF non riuscì a mettere in evidenza una tossina solubile, notevolmente attiva.

Noi facciamo osservare che tali eventualità non autorizzano a differenziare i due germi e che ad ogni modo da altre prove, quali ad es. l'agglutinazione e l'immunizzazione, è lecito attenderci un responso meglio esauriente.

Prima di procedere oltre, stimo utile accennare come il *B. oedematiens*, abbia riscontro nel bacillo di NOVY, da quest' A. isolato nel 1894 dalla cavia e da KERRY nei muscoli di un bue, morto per carbonchio sintomatico. Nelle descrizioni di questi AA. e di altri (KRUSE, MIGULA, v. HIBLER), che ebbero ad occuparsene, il *B. di Novy* presenterebbe alcuni caratteri, differenziabili da quelli dell'*oedematiens*; WEINBERG e SÉGUIN però, che ebbero opportunità di confrontare il *B. oedematiens* con un campione originale del *B. di Novy*, concludono col dire che non esistono fra i due germi differenze sostanziali e che molto verosimilmente essi sono identici. Un carattere però mettono in rilievo e cioè la forma della colonia in agar profondo, la quale

invece che ritrarre il tipo aperto, arborescente, è lenticolare dapprima e solo più tardi bernoccoluta o filamentosa.

La forma atipica è dagli AA. collegata alla antica data del campione.

Alla stessa causa è ricondotta la mancanza del potere patogeno, riscontrata nel campione originale di NOVY.

Nello stesso anno 1915 e precisamente nella seduta del 22 Luglio alla Società di Biologia di Parigi, COSTA e TROISIER descrivevano un gruppo di bacilli, intermedi fra il *B. perfringens* ed il *V. settico*.

Questi bacilli furono isolati rispettivamente da una ferita articolare (una volta), da una gangrena gassosa mortale (una volta), da un ascesso gassoso del cervello (due volte), da una gangrena massiva dell'arto inferiore (una volta), senza gas.

Anaerobi stretti, Gram-resistenti, attivi fermentatori degli zuccheri e degli albuminoidi, presentano, da una parte, caratteri che si riallacciano al *perfringens* (forma della colonia lenticolare in agar profondo, sedimento compatto nelle colture liquide), dall'altra, hanno delle proprietà, che li riavvicinano al gruppo del *vibrione settico* (spore e mobilità); la mobilità di questi germi è però subordinata ai veicoli di esame; i migliori risultati gli AA. ebbero da un liquido composto di 7 parti di brodo ordinario e 1 parte di albumina d'uovo.

Le lesioni provocate nella cavia consistono in edema emorragico, gas, digestione dei muscoli, tanto locale che a distanza, e del grasso.

Il potere emolitico non è uniforme per i cinque germi; in uno solo è intenso, negli altri, debole o nullo.

Gli AA. propongono per questi germi la denominazione di *B. litico*.

La descrizione sì dei caratteri colturali che di quelli patogeni, mentre per un lato è soverchiamente succinta, non utilizza, per converso, altri mezzi diagnostici: gli AA. infatti non fanno cenno del modo di comportarsi del coniglio e di altri animali da laboratorio, del potere agglutinante, dell'immunizzazione crociata e, accennando alle proprietà proteolitiche, non parlano, ad es., del comportamento del germe in gelatina. La descrizione quindi non ci offre una base di orientamento sicuro.

A completare il numero degli anaerobi descritti, quali agenti delle forme gassose, durante la guerra, diremo del *B. fallax*, del *B. aero-foetidus*, del *B. histolyticus*, dello *streptococco* di WEHRSIG e MARWEDEL, del *B. sarcemphysematodes hominis* di CONRADI e BIELING, del *B. tumefaciens* di WILSON ⁽¹⁾.

B. Fallax.

Descritto per la prima volta da WEINBERG e SÉGUIN nella seduta del 29 maggio 1915 alla Società di Biologia di Parigi, il germe veniva meglio individualizzato dagli AA. stessi in una successiva comunicazione (4 dicembre 1915).

a) *Colonia*. — 1. Agar profondo; forma a cuore giallo, a tipo chiuso, trasparente, finemente granulosa. Le colonie di 48 ore presentano spesso un ciuffo di diramazioni sottili ed ineguali.

In gelatina la colonia è a batuffolo di ovatta.

b) *Germe*. — 1.° *Forma e dimensioni*. — Estremità rotondeggianti: per lo più dritto, lungo da 1,2 μ . a 5, largo 0,6 μ . Il germe si presenta isolato o a diplo-bacillo.

2.° *Colorabilità*. — Gram resistente: nelle colture vecchie il germe si decolora.

3.° *Sporificazione*. — Abitualmente manca.

4.° *Mobilità*. — *Ciglia*. — Mobile vivacemente nei liquidi patologici, più debolmente nei liquidi di coltura.

Le ciglia sono numerose, lunghissime, sinuose o diritte, spesso a rete.

5.° *Capsula*. — Nettamente dimostrabile, specialmente nell'essudato peritoneale di topo.

6.° *Caratteri culturali*.

Brodo Martin glucosato al 2‰ — Gas ed intorbidamento intenso; chiarificazione incipiente e deposito soffice nelle 24 ore; chiarificazione completa in pochi giorni; odore e reazione acidi.

Brodo Martin non glucosato — sviluppo molto meno abbondante.

Brodo al bianco d'uovo — L'uovo non viene attaccato; qualche spora.

Gelatina. — Non viene fluidificata.

Latte al tornasole. — Decolorazione in 24-48 ore, coagulazione massiva in 3-8 giorni.

Bile. — Sviluppo molto stentato.

Siero coagulato. — Sviluppo stentato; il siero resta immutato.

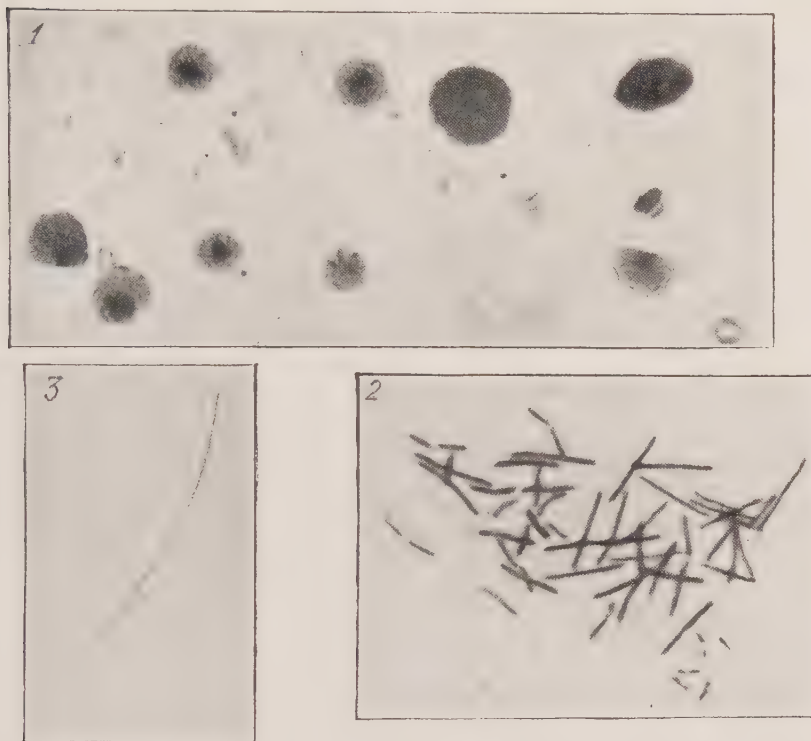
Brodo di carne. — Acidificazione: sviluppo scarso.

(1) La descrizione che segue nei riguardi dei primi tre tipi è improntata in parte alla descrizione di WEINBERG e SÉGUIN, in parte alle nostre personali osservazioni.

7.° *Caratteri biochimici.* — Il germe è attivissimo fermentatore del *glucosio*, *levulosio*, *maltosio*, *saccarosio*, *inulina*, *salicina* e *glicogeno*. *Mannite*, *lattosio*, *glicerina*, *amigdalina* restano immutati.

I liquidi glucosati vengono fortemente acidificati.

Il germe non è proteolitico.



8.° *Proprietà patogene.* — Il germe fu trovato da WEINBERG e SÉGUIN in un caso di gangrena gassosa mortale; in seguito fu isolato anche da altri (HENRY, ZIRONI).

Patogeno per la cavia e pel topo, non per il ratto. La cavia iniettata in vena con 1 cc. di coltura, muore in 12-16 ore: l'iniezione intra-muscolare dà: *in situ*, muscoli rossi, infiltrati di bolle di gas; a distanza, edema gelatinoso, rosso, infiltrato di gas. Nel peritoneo si trovano per lo più germi isolati o diplobacilli; rarissimamente, filamenti (fig. 3).

Facile la setticemia; le lesioni viscerali sono pressochè analoghe a quelle del *V. settico*.

L'iniezione sottocutanea è caratterizzata da abbondante gas, da edema rosso, esteso, da scolo di liquido sanguinolento, ricco di germi molto mobili.

Nel topo le lesioni ripetono i caratteri di quelli della cavia.

Il germe perde con facilità il potere patogeno, come io stesso ebbi a constatare.

9.° *Prodotti*. — Tossina debole; l'inoculazione in vena riesce mortale per la cavia in dose piuttosto alta (da 1 a 2 cc.): sotto cute provoca edema e talvolta fatti ulcerativi della cute (osservazione personale).

La coltura non ha proprietà emolitiche.

10.° *Reazioni immunitarie*. — Dal coniglio si può ottenere un buon siero agglutinante (1×500) per lo stipite omologo; WEINBERG e SÉGUIN ottennero anche una buona agglutinazione, usando siero di individuo deceduto per gangrena gassosa.

Il siero *antifallax* non agglutina altri germi del tipo *oedematiens*, *perfringens*, *sporogenes*, *aerofoetidis*: nè i sieri preparati da questi germi hanno azione agglutinante sul *fallax*.

Basandosi specialmente sulla morfologia e su qualche carattere culturale, WEINBERG e SÉGUIN riavvicinano volentieri il *B. fallax* ai *B. VI* e *VII* di v. HIBLER.

Per uno dei campioni inviatomi dall'Istituto Pasteur io ho potuto mettere in evidenza: 1° la presenza di qualche spora paraterminale, coltivando il germe in liquido ascitico + fegato: 2° formazione di colonie arborescenti con nucleo molto scuro ed opaco, del tutto simili a quelli del *B. VII* di v. HIBLER.

I caratteri da me messi in evidenza tenderebbero quindi ad omologare il *B. fallax* a quest'ultimo.

Del resto STOLZ, come già si disse, descriveva nel 1902 un germe, isolato da un caso di gangrena gassosa comune, simile per la morfologia, per l'assenza delle spore, per la facile perdita del potere patogeno e per le attive proprietà fermentative sugli zuccheri, al *B. VII* di v. HIBLER ed al *B. fallax*.

B. *Aerofoetidis*.

Un germe che presenta parecchie analogie col precedente è il *B. aerofoetidis*, da WEINBERG e SÉGUIN isolato in quattro casi di gangrena gassosa, associato ad altri germi e poi osservato e descritto anche da HENRY; differisce dal *fallax* pel potere proteolitico spiccato e pel chemismo putrido.

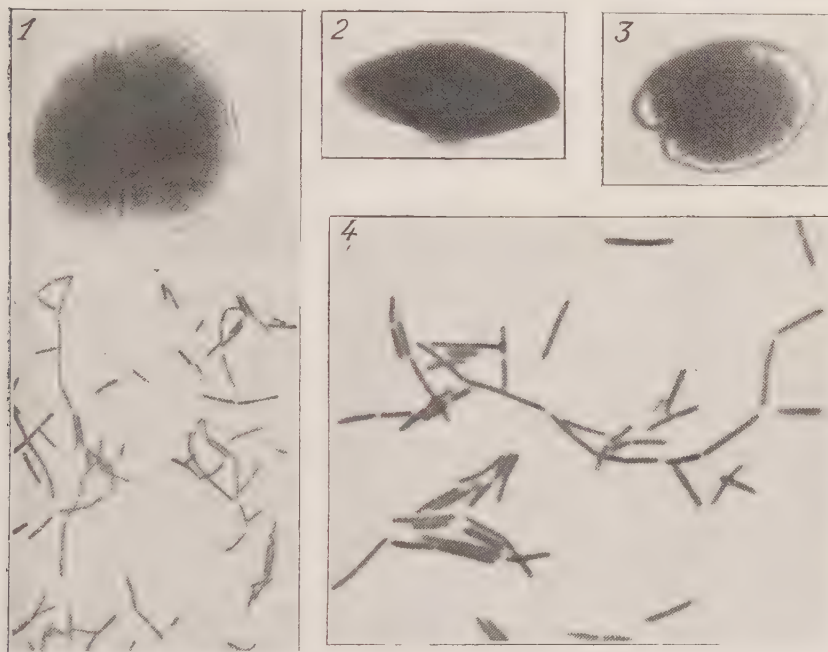
a) *Colonia*. — In agar profondo glucosato: ovalare e a cuore giallo (WEINBERG e SÉGUIN); col metodo della triplice piastra si hanno colonie rotondeggianti, ovalari, lievemente granulose, talvolta provviste di corte diramazioni: tali colonie richiamano molto da vicino alcuni tipi di colonie di *perfringens* (V. figura 1-3, pag. 453). La gelatina è rapidamente fluidificata.

b) **Germe.** — 1°. *Forma e dimensioni.* — Presso a poco della dimensione del *B. fallax*: in agar si presenta come un bastoncino diritto o leggermente ricurvo, isolato o in breve catenella (fig. 1).

2°. *Colorazione.* — Gram resistente nelle colture giovani.

3°. *Sporificazione.* — Assente.

4°. *Mobilità.* — Mobile nei liquidi patologici: poco o punto nelle colture e solo se recenti.



5°. *Caratteri colturali.* — Presso a poco quelli del *B. fallax*, colla differenza dell'odore fetido⁽¹⁾ e del potere digestivo sulla *caseina*, *gelatina*, *siero* e *carne*.

6°. *Caratteri biochimici.* — Fermentatore attivo del *lervuloso*, *glucosio*, *malto*, *lattosio*, *salicina* e *glicogeno*.

7°. *Proprietà patogene.* — Minori che pel *B. fallax* e limitate alla cavia.

L'iniezione endo-muscolare provoca fatti irritativi, tenesmo; localmente, edema, con tendenza ad estendersi; a distanza muscoli rossi, infiltrati di bolle gassose; le lesioni hanno carattere leggermente putrido. La morte sopravviene in 36-72 ore.

Come il *fallax*, il *B. aerofetidus* perde ben presto il potere patogeno.

(¹) Gli AA. francesi a proposito della fetidità della coltura affermano che essa aumenta coll'invecchiamento; nelle colture in brodo al fegato io ho invece constatato che l'odore fetido scompare o si attenua coll'invecchiare della coltura.

8.° *Prodotti*. — WEINBERG e SÉGUIN non poterono mettere in evidenza nè tossina solubile nè emotossina.

9.° *Peazioni immunitarie*. — Agglutinazione specifica al 1×100 ; il germe non è agglutinato dal siero agglutinante *anti-fallax*.

B. Histolyticus

Fu isolato da WEINBERG e SÉGUIN in otto casi di gangrena gassosa; VAUCHER successivamente l'isolò dalle sierosità muscolari di un soldato ferito alla scapola e deceduto con sintomi speciali di dissolvimento del tessuto muscolare, senza gas e senza putrefazione: il germe era associato al *B. sporogenes* ed al *B. oedematiens*.

a) *Colonia*. — (Secondo WEINBERG e SÉGUIN). In agar profondo glucosato nitrato di 12-24 ore: colonie giallo-grigie, di 1-2 mill. di diametro, con grosso nucleo centrale irregolare, dal quale si irradiano filamenti ramificati ed aggrovigliati. Successivamente il centro si fa meno denso, i filamenti periferici aumentano; ulteriormente ancora la colonia può perdere i filamenti e presentarsi sotto forma di grosso centro compatto, scuro, a contorno mammellonato (Fig. 5, tavola 5, pag. 148; WEINBERG e SÉGUIN, G. gazeuse).

Le figure 1-6 della pagina 455, da me ottenute col sistema della tripla piastra, ritraggono parecchi aspetti coi quali si presentano le colonie.

In agar inclinato le colonie sono rotonde e trasparenti con centro grigiastro.

In gelatina, sono arborescenti, a batuffolo di ovatta: la fusione del mezzo è rapida.

b) *Germe* — 1.° *Forma e dimensioni*. — Bacillo dritto, lungo da 3 a 5, largo da 0,5 a 0,8 μ , isolato o a diplo-bacillo, rarissimamente in catenelle. estremità leggermente arrotondate (fig. 4, pag. 455: colonia in agar con germe).

2.° *Colorazione*. — Gram resistente nelle colture giovani; nelle colture di vecchia data, il germe si decolora e presenta forma granulosa.

3.° *Sporificazione*. — Facile: le spore, voluminose, ovalari, per lo più paraterminali, debordano dal corpo bacillare: il brodo al bianco d'uovo è il terreno meglio adatto. La sporulazione però si verifica anche in brodo glucosato al 2‰; nelle colture vecchie si trovano spore libere in grande quantità (fig. 7, pag. 455: brodo di 33 giorni).

4.° *Mobilità*. — *Ciglia*. — Mobile nei liquidi patologici e nei liquidi culturali: la mobilità però non è costante e manca nelle colture vecchie; il germe possiede movimenti ondulatori: le ciglia, peritriche, sono numerose e spesso in groviglio.

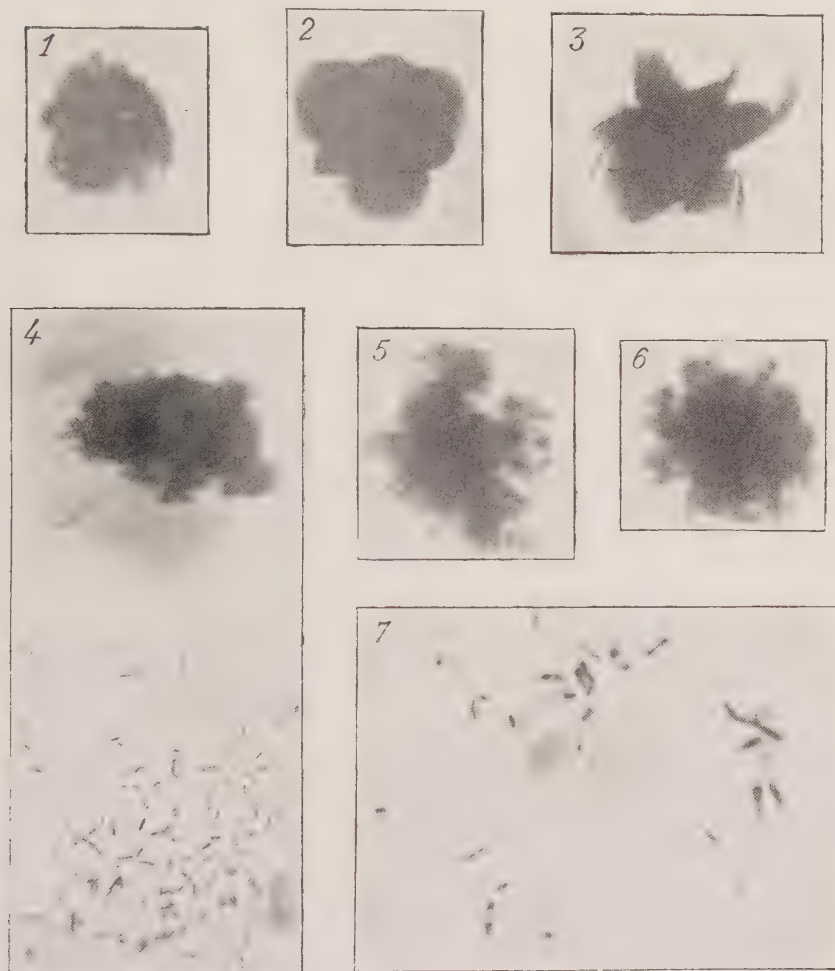
5.° *Caratteri culturali*. — Anaerobio stretto, il germe ha leggero ricambio putrido.

Brodo Martin glucosato (al 2‰). — Intorbidamento, rapida chiarificazione, deposito, di solito, rapido, assenza di gas, odore lievemente fetido.

In brodo *non glucosato* lo sviluppo ha caratteri presso a poco identici. L'aggiunta di bianco d'uovo agevola lo sviluppo.

Latte. — Prima coagulato in fiocchi e poi digerito.

Siero coagulato — Carne — Digestione in vario tempo a seconda dei ceppi. La carne viene digerita.



6.° *Proprietà biochimiche.* — Proteolitico efficace, si avvicina, senza raggiungerli, ai caratteri peptonificanti del *B. sporogenes*, e del *B. putrificus*.

Fermenta *maltosio*, *levulosio* e *glucosio*: non produce gas.

7.° *Potere patogeno.* — Su sei stipiti, WEINBERG e SÉGUIN ne trovarono due *avirulenti*, uno debolmente e tre fortemente *patogeni*. *Cavia*, *coniglio*, *topo*, e, meno, il *ratto*, sono animali ricettivi.

La cavia, iniettata in vena con 1-2 cc. di coltura in brodo MARTIN, presenta, dopo pochi minuti, forte dispnea, scosse agli arti e presto cade in coma: l'esito letale si verifica in 10 minuti. Diminuendo la dose, aumenta il periodo di sopravvivenza fino a 12-18 ore. L'inoculazione endo-peritoneale è pure rapidamente mortale, col quadro precedente. Come lesioni troviamo: iperemia del fegato, delle ghiandole surrenali e della milza; essudato emorragico nel peritoneo.

L'iniezione endo-muscolare provoca *in situ* emorragia nel sottocutaneo, digestione del connettivo e dei muscoli, edema siero-emorragico a distanza. La distruzione dei tessuti è il fenomeno caratteristico provocato nel sito della iniezione, e può avere tale intensità da denudare ad es. di parti molli un arto intero o provocare la perforazione della parete addominale. Tale distruzione non è accompagnata nè da gas nè da odore fetido.

Nel liquido che cola dai muscoli si trovano molti bacilli mobili, non sporificati. Nel peritoneo non si osservano filamenti, ma solo *diplo-bacilli*, talvolta molto lunghi.

La morte della cavia avviene in 18-48 ore, a seconda della dose di coltura inoculata: interessante l'*ipotermia* parecchie ore prima della morte.

L'inoculazione sotto cute provoca fatti distruttivi, ma l'animale resiste anche a dosi generose (4 cc.).

Nel *coniglio* e nel *topo* bianco l'inoculazione provoca presso a poco la stessa sintomatologia che nella cavia.

Nel *ratto* bianco la morte avviene molto più tardiva dietro inoculazione endo-muscolare anche di dosi forti (3-6 cc.); specialmente alterato è il connettivo sotto-cutaneo; meno, i muscoli.

Il germe conserva il potere *patogeno*, specialmente per il *topo*; nella *cavia* invece la virulenza si attenua entro limiti di tempo anche non esageratamente lunghi, ad es. 7-8 mesi.

8.° *Prodotti* — Solo la coltura di 18-24 ore è capace di fornire una tossina solubile, che si può ottenere colla centrifugazione; la filtrazione attraverso la candela di CHAMBERLAND attenua notevolmente il potere tossico del filtrato.

La tossina, ottenuta colla centrifugazione della coltura, esplica proprietà biochimiche e patologiche su per giù identiche a quelle della coltura totale. Le lesioni anatomiche consistono prevalentemente in fenomeni emorragici: il fatto fu constatato con particolare evidenza da WEINBERG e SÉGUIN nel corso delle immunizzazioni del cavallo, mediante inoculazione sotto-cutanea di tossina.

9.° *Reazioni immunitarie*. — Gli AA. ottennero dal cavallo un siero anti-tossico ed agglutinante.

Il *B. histolyticus* ha in comune col *B. sporogeno* di METCHNIKOFF il potere proteolitico, meno accentuato però nel primo: ne differisce per l'assenza di carattere putrido e di gas nelle lesioni sperimentali: l'agglutinazione crociata manca.

Le proprietà proteolitiche della coltura e l'assenza di gas

nelle lesioni sperimentali differenziano poi il germe dal *V. set-tico*, la cui antitossina del resto è senza influenza sulle colture del *B. histolyticus*.

Streptococco anaerobio.

Nel mese di luglio 1915 WEHRSIG e MARWEDEL descrivevano uno streptococco strettamente anaerobio, isolato una prima volta dai tessuti in un caso di gangrena gassosa, con enfisema e miolisi; una seconda volta, da un caso di edema esteso dei tessuti dell'arto inferiore.

Le particolarità del germe sono le seguenti:

Anaerobio stretto, a ricambio putrido, annerisce la pappa di cervello; gassogeno nei mezzi albuminoidi, di debole resistenza, *patogeno* per la *cavia*, che muore in 12 ore dietro iniezione sottocutanea di una coltura in brodo di 24 ore. provoca edema gelatinoso-emorragico, gas, essudazione peritoneale abbondante, iperemia viscerale.

L'emocultura riesce positiva.

Gli AA. identificano il germe da essi descritto collo *streptococco putrido di SCHOTTMÜLLER*.

B. Sarcemphysematodes hominis.

Il germe è stato descritto da CONRADI e BIELING nel gennaio 1916.

a) *Colonia*. — In agar profondo: forma a fiocco con centro opaco e zona periferica in corti filamenti raggiati.

In gelatina la zona radiale filamentosa è molto evidente, la fusione avviene piuttosto lentamente, con opalescenza.

b) *Germe*. — 1.° *Forma o dimensioni*. — Polimorfismo spiccato; il germe si presenta ora in filamenti sottili, ora in bastoncini spessi e corti: con frequenza è accoppiato.

2.° *Colorabilità*. — Gram resistente: presenza di granulosi.

3.° *Sporificazione*. — Le spore, ovali e voluminose, resistono anche per 60' alla ebollizione; esse si trovano facilmente nei tessuti.

4.° Le *ciglia*, numerose, ben colorabili col metodo di LÖFFLER, sono peritriche.

5.° *Caratteri culturali*. — In brodo TAROZZI si ha sviluppo di gas, acidità ed intorbidamento; la chiarificazione del mezzo avviene piuttosto rapidamente: la gelatina viene fusa; il siero, annerito e liquefatto.

Il cervello di bue non viene annerito, mentre lo è quello di cavia e di coniglio, con acidificazione considerevole.

Il latte viene acidificato e coagulato; la caseina resta attaccata.

6.° *Proprietà biochimiche.* — Fermenta lattosio, saccarosio, maltosio, glucosio, levulosio, galattosio, mannite, xilosio, ramnosio, arabinosio, mannosio.

Oltre queste proprietà saccarolitiche potenti, il germe si dimostra anche attivo proteolitico, poichè digerisce l'albumina d'uovo, la caseina, il siero coagulato, con svolgimento H²S. Non risultano proprietà lipolitiche in vitro.

7.° *Potere patogeno.* — Nella cavia, che è specialmente ricettiva, le lesioni consistono ora in edema emorragico, invadente, muscoli rosso-scuri, con poco gas, ora in edema localizzato, miolisi putrida, gas. Il potere patogeno scompare presto coi passaggi ripetuti in terreni artificiali. I conigli sono ricettivi soltanto alla inoculazione di agar infetto; così pure i polli.

8.° *Prodotti.* — Il succo muscolare conserva la sua tossicità a 66° per 60'; questa diminuisce e scompare se trattata con ossigeno (10' a 120 atmosfere). Trattasi di tossine istogene; le tossine vere del germe hanno caratteristiche speciali, che l'A. si ripromette di delucidare.

9.° *Reazioni immunitarie.* — Siero agglutinante al 1×7000, con proprietà specifiche pel germe che ha servito alla preparazione del siero: questo siero agglutina il *B. perfringens* in diluizione di 1×10. CONRADI e BIELING, proseguendo nello studio del germe, tendono ad unificare la flora batterica della gangrena gassosa, affermando l'esistenza di un germe unico, dal quale, attraverso svariate modificazioni, derivano stipiti con caratteri diversi, biologici e culturali. E così gli AA. fanno del germe da essi descritto un bacterio polimorfo, il quale in diversi stadi del suo ciclo è capace di presentarsi coi caratteri più svariati, da quelli del *perfringens* a quelli del *B. dell'edema maligno* nel senso di v. HIBLER e cioè dai caratteri di un germe abitualmente immobile ed asporigeno, a quelli di un germe mobile e sporificato.

FASIANI, controllando le esperienze di CONRADI e BIELING, nega la possibilità di una modificazione dei caratteri dei singoli stipiti e conclude che, come il concetto di CONRADI e BIELING sulla pretesa trasformazione non ha il conforto dei fatti, così l'infezione gassosa deve considerarsi come un quadro ad eziologia non unica.

Per l'esperienza indiretta che a me risulta dalle molteplici osservazioni al riguardo degli anaerobi gassosi studiati nei più svariati terreni di coltura, artificiali ed animali, non ho che ad associarmi alla opinione di coloro i quali ritengono non esatta la concezione della trasformabilità dei caratteri di un dato germe. Riguardo alla premessa di KOLLE, HITZ e SCHLOSSBERGER, è lecito osservare che per i germi cigliati la presunta immobilità non è altro che apparente inquantochè, quando l'esame venga compiuto in condizioni adatte, ad es. strettamente al riparo dell'atmosfera, la mobilità riesce dimostrabile.

B. Tumefaciens.

I. WILSON, descrivendo nel *Lancet* dell'aprile 1919 un bacillo anaerobio, patogeno, da lui riscontrato in un soldato ferito alla testa ed al braccio sinistro, ritiene trattarsi di una specie nuova quantunque riconosca la necessità di ulteriori indagini.

Caso clinico. — Soldato di 23 anni, ferito al capo, al braccio sinistro ed alla coscia sinistra: quest'ultima localizzazione appare la più importante. In 5° giornata furono iniettati sottocute 50 cc. di siero WEINBERG (20 cc. di siero-antiperfringens + 20 di anti-vibrione settico + 10 di antioedematiens; l'inoculazione fu ripetuta il giorno appresso; in 7ª giornata il ferito veniva a morte. Il reperto locale era caratterizzato da edema e gas.

Reperto batteriologico. — Nei muscoli del cadavere e nel liquido di edema numerosi bacilli gram-positivi, taluni con spora centrale; nei muscoli, ma non nel liquido di edema, si trovavano inoltre enterococchi e bacilli del tipo *tertius*.

Per l'isolamento, l'A. con pezzetti di muscolo infetto insemenzò brodo di cervello, cervello lattosato, brodo salicinato e seminò in agar-sangue e agar glucosato al 2^o/100, ottenendo, in quest'ultimo, lo sviluppo di colonie profonde coi seguenti caratteri;

a) *Colonia.* — Forma a rene, ad asso di cuore (forma a cuore giallo), a pietra da arrotare: ora con contorno netto (il più spesso), ora col tipo della colonia arborescente.

Delle colonie a contorno netto talune portano un ciuffo di filamenti irradianti dal centro; frequentissima, la forma a granata.

b) *Germe.* — 1.° *Forma.* — Bastoncino ad estremità arrotondata, più sottile del *B. perfringens*, con spora ovale: in brodo glicerinato, forma a fuso con bene evidente macchia polare, frequente forma a limone; tanto nei tessuti che nei terreni di coltura il *B.* si presenta frequentemente granuloso. Sulla superficie del fegato, presenza di filamenti.

2.° *Colorazione.* — Gram resistente.

3.° *Sporificazione.* — Facile tanto nei tessuti che nelle colture; spora prevalentemente a clostridio (*glicerina, inulina, brodo lattosato*); nel brodo di carne la spora è tanto centrale che sub-terminale.

4.° *Mobilità:* vivace (L'A. non fa menzione delle ciglia).

5.° *Caratteri culturali.* — Sviluppo di gas, specialmente nei terreni liquidi, zuccherati.

6.° *Proprietà biochimiche.* — Il germe non è proteolitico; nel latte produce acido e gas: la caseina, coagulata, non viene disciolta; fermenta glucosio, levulosio, galattosio, maltosio, lattosio, saccarosio, inulina, glicerina, salicina, con sviluppo di acidi e gas, non fermenta la mannite nè la dulcete.

7.° *Potere patogeno.* — Cavia e coniglio sono ricettivi all'inoculazione, sottocutanea ed endomuscolare. La cavia, iniettata con coltura in brodo di carne di 48 ore, muore entro le 24 ore: all'autopsia, voluminosa tumescenza a livello del punto iniettato, costituita da una massa gelatinosa del sottocutaneo; i muscoli sottostanti presentano gas ed emorragie: la parete addominale dal lato iniettato è arrossata.

Nell'edema gelatinoso, nel tessuto muscolare e nel fegato, numerosi bastoncini coi caratteri già descritti; sulla superficie del fegato, filamenti lunghi circa sette volte un globulo rosso. Il germe è emolitico.

AEROBI.

Coccobacillus verdumensis.

Nella seduta 29 maggio 1915 BESREDKA riferiva alla Société de Biologie sopra un *coccobacillo*, trovato più volte assieme al *V. settico*, molto raramente assieme al *B. perfringens*, nei tessuti di ferite anfrattuose, prodotte per lo più da scoppio di obici. L'A. riportò l'impressione che questo germe avesse un significato molto importante nel determinare la gravità di certe ferite.

a) **Colonia.** — In agar su piastra: forma rotonda, trasparente, simile a quella del B. di EBERTH; in agar-striscio, pellicola sottile, bianco-grigiastra, trasparente.

La gelatina non viene fluidificata; i caratteri della colonia sono identici a quelli dell'agar.

In agar alto strato: gas e rottura del mezzo.

b) **Germe.** — Forma ovoidale di μ . 1-2; colorato ai due poli, con spazio chiaro al centro (*bacillo a navetta*); Gram negativo. Sviluppo rigoglioso in brodo e in brodo-siero, con formazione di abbondante sedimento nelle 24 ore, con pellicola superficiale al termine di qualche giorno: sviluppo stentato nel latte e nella bile, il latte non viene coagulato, la bile non viene intorbidata, nessun sviluppo apparente su patata: sul siero, sviluppo discreto.

Potere patogeno. — L'inoculazione endoperitoneale nella cavia e la endovenosa, ha fornito un siero preventivo molto efficace. BESREDKA, oltre che nei tessuti, trovò il *coccobacillo* tre volte nel liquido cerebro-spinale; l'isolò inoltre dal sangue di un individuo diagnosticato come tifico. A Verdun l'A. fra 120 ammalati febbricitanti entrati nel padiglione tifico, ne trovò 16, il siero dei quali agglutinava fortemente il *cocco-bacillo*, da 1×30 a 1×2500 ; l'agglutinazione risultava istantanea.

Può darsi che questo *cocco-bacillo* eserciti effettivamente una parte importante nella patogenesi della gangrena gassosa. Certo però esso non si può dire determini lesioni sperimentali, che possano inquadrarsi in uno dei tipi anatomo-patologici da noi studiati. D'altra parte il germe non è stato oggetto di ulteriori osservazioni, nè, a quanto risulta, fu trovato da altri.

RIASSUNTO NEI RIGUARDI DEI GERMI DESCRITTI.

Lo studio delle forme batteriche passate in rassegna ci permette di raccogliere anzitutto in un quadro d'insieme i germi che, tanto avanti, come durante la guerra, furono descritti quali agenti patogeni più comuni delle ferite gassose.

Il *B. X* di v. HIBLER però, dall' A. stesso trovato soltanto negli animali e da nessun Bacteriologo¹ ulteriormente descritto nelle ferite di guerra, non può venire compreso; il *B. sarcemphysematodes* di CONRADI e BIELING, pel suo pleomorfismo merita ulteriore studio.

Il quadro quindi può venire schematizzato in tre gruppi principali di germi che hanno in comune:

1.^o Caratteri colturali. — Anaerobiosi obbligata, sviluppo di gas.

2.^o Proprietà biochimiche: a) attività proteolitica scarsa ed incostante, peptolitica nulla o appena apprezzabile; b) chemismo non putrido; c) potere saccarificante più o meno accentuato.

3.^o Potere patogeno: accentuato per tutti o quasi tutti i comuni animali da laboratorio.

I germi patogeni che rispondono a tali premesse e che furono più comunemente isolati dalle ferite sono i seguenti:

1.^o Gruppo del *vibrione settico* o *B. dell' edema maligno* nel senso di GHON e SACHS.

2.^o Gruppo del *B. perfringens* (B. di WELCH, B. di FRÄNKEL).

3.^o Gruppo del *B. Novy*.

I germi del 1.^o gruppo comprendono parecchi stipiti e sono specialmente caratterizzati da un certo pleomorfismo (forme a botte, a barilotto, a limone) e dalla tendenza a dare forme filamentose sulla superficie dei visceri addominali, particolarmente del fegato. Su quest' ultimo carattere che, secondo i bacteriologi, è il più importante per la diagnosi differenziale, avremo occasione di tornare in appresso.

Fra i germi descritti quali nuove specie nel corso della guerra, il *B. tumefaciens* di WILSON, stando alla descrizione dell' A., presenta caratteri tali da potere venire omologato al *vibrione* (forma a limone; filamenti alla superficie dei visceri); se ne distinguerebbe per il potere saccarolitico più esteso e per la tendenza a dare nell' animale edema gelatinoso più cospicuo. Tale edema presenta, a detta dell' A. stesso, il carattere emorragico tipico dell' edema da *V. settico*.

Circa il *B.* di EISENBERG-FRÄNKEL e quello di PFEIFFER-BESAU mancano elementi sicuri per un giudizio decisivo.

Il gruppo del *B. perfringens* include stipiti molto numerosi, donde la causa di controversia sull' esistenza o meno di talune

proprietà, specialmente di quella relativa alla liquefazione della gelatina e del siero di bue coagulato. Gli stipiti da me isolati costantemente fluidificarono la gelatina, poco o punto il siero coagulato di bue; tutti sono potentemente saccarolitici. La produzione di gas e la digestione dei tessuti e specialmente dei muscoli, caratterizzano il quadro sull'animale da esperimento.

Il terzo gruppo può comprendere, oltre il *B. di Novy* ed il *B. oedematis* di WEINBERG e SÉGUIN, il *B. Gasoedem* di ASCHOFF e, stando ai caratteri tracciati come definitivi nell'animale da esperimento dall'A. stesso nel maggio 1916, anche il *B. bellonensis* di SACQUÉPÉE. Verosimilmente ci troviamo dinanzi a quattro stipiti dello stesso germe, ed alcune differenze nella morfologia della colonia non autorizzano ad ulteriori scissioni.

La flora della gangrena gassosa resterebbe quindi inquadrata in questi tipi di germi principali: *vibrione*, *perfringens* e *B. Novy*; i primi due già ben noti prima della guerra come agenti patogeni umani, il terzo invece conosciuto specialmente come agente di infezioni negli animali, quali la *cavia* (NOVY), il *bue* (KERRY), il *coniglio* (HIBLER) e solo per una osservazione di v. HIBLER anche nella specie umana (donna morta per setticemia).

Il periodo della guerra ha richiamato l'attenzione sopra questo germe, la cui frequenza, secondo WEINBERG e SÉGUIN non sarebbe seconda che a quella del *B. perfringens*, nella patogenesi della gangrena gassosa delle ferite.

Degli altri tipi di germi, descritti nel corso della guerra, il gruppo del *B. lyticus* di COSTA e TROISIER abbisogna di ulteriore osservazione. Il *B. fallax* omologabile, come già si disse, specialmente al *B. VII* di v. HIBLER ed al *B.* di STOLTZ, presenta molti punti di contatto col gruppo del *V. settico*; WEINBERG e SÉGUIN tuttavia insistono nel farne una specie a parte, basandosi particolarmente sull'assenza della immunizzazione crociata.

Il *B. aerofaetidus*, molto vicino al precedente, se ne distingue pel chemismo putrido, pel potere proteolitico accentuato e per qualche diversità nelle proprietà saccarolitiche: limitatamente patogeno anche per la *cavia*, provoca lesioni che ricordano quelle dello sporogeno. La sua importanza in patologia umana necessita di ulteriore accertamento.

Il *B. histolyticus* mentre presenta analogie colturali considerevoli col *vibrione settico*, ne differisce pel potere proteolitico e per le lesioni sperimentali a tendenza distruttiva: un raffronto col gruppo di COSTA e TROISIER potrebbe forse riuscire utile a semplificare la classifica.

Anche per questo germe la patogenecità per l'uomo abbisogna di ulteriori osservazioni, quantunque l'autorità di WEINBERG e SÉGUIN e la conferma per parte di VAUCHER siano elementi di valore, nella valutazione della entità batterica.

Le due osservazioni di WEHRSIG e MARWEDEL nei riguardi dello *streptococco anaerobio putrefacente*, da essi isolato in due casi di gangrena gassosa, non ebbero ulteriore controllo, quantunque il quadro anatomo-patologico, presentato dagli animali, morti dietro inoculazione di coltura in brodo del germe, meriti considerazione.

Nei riguardi dei germi *aerobi*, descritti volta a volta quali agenti specifici di gangrena gassosa (*B. antracoides*, *B. pseudo-oedematis maligni* di KLEIN-SANFELICE, *B. settico aereobio* di LEGROS e LECÈNE, *B. aerogenes agilis* di UFFENHEIMER, *coccobacillus verdunensis* di BESREDKA), il *B. pseudo-edema maligno* di KLEIN-SANFELICE sarebbe stato isolato da CHAVIGNY in un caso di gangrena gassosa, mortale a lunga scadenza (37 giorni); il *B.* di LEGROS e LECÈNE dovrebbe considerarsi, secondo gli AA., come agente provocatore di una gangrena gassosa, mortale in 3 giorni; ma, secondo osservano WEINBERG e SÉGUIN, la mancanza di colture anaerobiche dai tessuti alimenta il dubbio che il germe aerobio, risultato patogeno per la cavia, potesse non essere l'unico agente dell'infezione gassosa, ricordata nel caso degli AA. Resta però il fatto che la coltura pura del germe fu capace di provocare nella cavia un quadro anatomico (tumefazione crepitante, disfacimento putrido dei tessuti) ed una sindrome clinica (ipotermia e morte in 40 ore), che offrono punti di contatto coi quadri provocati da anaerobi patogeni delle ferite gassose.

A chiusa di questa rapida rassegna possiamo confermarci nel concetto che fra i germi descritti, quelli da noi raccolti nei tre gruppi rispondono alle vere esigenze di germi quasi specifici: questo per la frequenza del loro reperto nelle ferite di guerra, come per la costanza delle lesioni anatomiche speri-

mentali. Subordinatamente a questi tre tipi, il *B. fallax* è quello che merita particolarmente considerazione, nei riguardi delle esigenze su ricordate.

Gli altri germi descritti, *anaerobi* ed *aerobi*, necessitano di ulteriore esame nei riguardi della loro eventuale patogenecità per la specie umana.

PARTE IV.

RICERCHE SUI CASI PERSONALI DI INFEZIONE GASSOSA.

Le condizioni specialmente favorevoli, nelle quali il nostro studio si svolse, permisero una serie sistematica di indagini, nelle quali coll'osservazione clinica andò di pari passo il controllo bacteriologico durante l'intero svolgimento del quadro morboso.

CAPITOLO I.

Vie di indagine e di accertamento.

Le nostre ricerche ebbero per base il *sangue*, i *tessuti* ed i *risceri*.

Sangue. — Fu utilizzato tutte le volte che riuscì possibile, con due modalità:

- a) Inoculazione endoperitoneale nella cavia.
- b) Emocoltura.

Fra questi due mezzi in esame, il primo offre considerevoli vantaggi, in quanto permette, nella quasi totalità dei casi, un concetto diagnostico e prognostico rapido e probativo della massima importanza.

Sino dagli ultimi mesi del 1915 ne avevo intuito la grande praticità, ma l'applicazione metodica non mi riuscì che sullo scorcio del 1916, epoca nella quale riassunsi i risultati ottenuti, confermati appieno da chi volle in seguito tale procedimento sperimentare.

L'emocoltura è mezzo meno rapido; il suo valore tuttavia può trarre incremento da possibilità di peculiari rilievi, ad es. modalità del chemismo del germe, specialmente nei terreni liquidi.

a. Prova biologica. — La *cavia* è l'animale di scelta; il *topo* di fogna e quello di trincea, tanto abbondante sul Carso, fu pure adoperato, ma più limitatamente; in via eccezionale, il *coniglio*, sì in causa della meno uniforme ricettività che della maggiore difficoltà a procurarlo.

Tecnica. — Preparata nel modo più conveniente la cute dell'addome dell'animale, si aspirano da una delle vene della piega del gomito del ferito, con una grossa siringa e colle cautele della massima asepsi, 4-5 cc. di sangue.

La quantità da inocularsi entro il peritoneo va commisurata al peso dell'animale. Di solito, io iniettai 5 cc. di sangue per Kg. (*cavia*). Per ogni accertamento di tal genere in principio vennero adoperati ogni volta 3-4 animali; in proseguo di tempo mi limitai al numero di 2.

Gli animali, così trattati, vengono chiusi in gabbie separate e lasciati a regime di vitto normale.

All'atto dell'iniezione viene accuratamente misurata la temperatura; misurazione che è ripetuta dopo 1 ora e, successivamente, di 3 in 3 ore.

Qualche volta e specialmente all'epoca dei primi esami di tal genere (gennaio 1916), trovai necessario inoculare animali di controllo con sangue di individuo sano.

Risultati. — Il procedimento, come già dissi, mi si rivelò, fino dal principio, della massima utilità, nei riguardi della prognosi e della diagnosi.

Esso fu messo in opera 33 volte e precisamente in 24 casi mortali e in 9 decorsi a guarigione.

Dei 24 casi mortali, 23 fornirono esito positivo, 1 negativo.

Nei 9 guariti, gli animali per niente si risentirono della iniezione, eccettuato un quasi costante rialzo termico. Lo stesso dicasi pei controlli, nei quali il rialzo fu però meno uniforme.

Dei 23 casi positivi, 22 furono tali alla 1^a iniezione: in uno soltanto, la 1^a iniezione fu senza risultato, mentre una 2^a, praticata con sangue del ferito in epoca più inoltrata, riuscì positiva.

Il 1° prelevamento del sangue dai feriti variò fra la 6^a e la 22^a ora; nei feriti sopravvissuti per qualche giorno o guariti, i prelevamenti furono ripetuti, talvolta fino a 5 volte.

Nei casi riusciti mortali, il comportamento dell'animale è caratteristico talvolta fin dalla prima ora, poichè già a tale

epoca si può osservare in qualche caso una forte ipotermia (da $38^{\circ},5$ a $35^{\circ},4$): naturalmente in questi casi la morte segue a breve scadenza, talora alla 5^a-7^a ora: più comunemente però si ha un lieve rialzo termico alla 1^a ora, cui segue, più o meno rapidamente, ipotermia.

Ma oltre la modificazione termica, si notano già fino dalle prime ore fatti che mettono sull'avviso; tali fatti consistono ora in irrequietezza, ora in uno stato depressivo, cui seguono i sintomi caratteristici che ritroveremo nel quadro della riproduzione sperimentale: la morte sopravviene di solito prima della 16^a ora; ma, come ripeto, il quadro si delinea tanto precocemente da rendere possibile una diagnosi di probabilità già nelle primissime ore dalla praticata iniezione. A riprova di ciò sta l'esempio seguente:

Il sold. B.... era stato amputato il giorno 4 ottobre 1916 al 3° inferiore della coscia destra per frattura comminuta del ginocchio con lesione dei vasi poplitei. Poco prima dell'amputazione era stata praticata la coltura del sangue e dei tessuti della ferita in brodo MARTIN, brodo TAROZZI ed agar alto strato. Otto ore dopo l'operazione, il ferito manifestò uno stato ansioso sospetto: l'esame del moncone non mise però in rilievo fatti di speciale importanza. Iniettate tre cavia entro il peritoneo, con circa 3 cc. di sangue del paziente, si ebbe la morte di uno degli animali nella giornata stessa (6 ore dopo), mentre i due restanti morirono nel mattino appresso (15 e 17 ore dopo).

Le condizioni del moncone di amputazione si mantennero soddisfacenti fino alla 23^a ora; nel frattempo però il ferito (14^a ora) aveva avuta un rialzo termico a $38,5$ con P. a 112. Dopo quest'epoca si verificava un accentuato aggravamento nello stato generale, sul moncone comparvero fatti di infiltrazione edemo-emorragica ed il paziente moriva 50 ore dopo l'intervento, 80 ore circa a distanza dalla ferita.

La coltura anaerobica fatta coi tessuti della ferita risultò positiva solo dopo la morte della 1.^a cavia; l'emocoltura soltanto verso la 40^a ora e cioè poco prima della morte del paziente.

Nei riguardi batteriologici, il metodo può venire utilizzato come segue: 1°) inoculazione *col materiale di autopsia dell'animale*; 2°) inoculazione, in casi adatti, *col sangue attinto dall'animale vivente*. A questo secondo scopo la puntura del cuore, ben sopportata dalla cavia, può dare utilissimi insegnamenti, essendo possibile mettere in evidenza, nell'eventualità di germi patogeni altamente setticemici la presenza di germi nei preparati a striscio già fin dalle prime ore. L'aspirazione del sangue dal cuore

nella cavia, potendo venire ripetuta parecchie volte, permette esami sistematici.

Il grosso *topo* di fogna o di trincea fu pure ottimo materiale di studio. In esso, in un caso, colla puntura della radice della coda, potei mettere in evidenza il passaggio del germe nel sangue già alla 4^a ora dalla inoculazione endoperitoneale, quantunque la morte dell'animale avvenisse soltanto alla 23^a ora.

Molto raramente, come dissi, adoperai il coniglio.

Il reperto di autopsia è, infine, di sommo vantaggio. Per evitare cause di errore, se non frequenti almeno possibili, è però necessario eseguire la sezione dell'animale *in vivo* e cioè ad animale *agonizzante*, o meglio sacrificarlo quando i segni della sua perdita sono evidenti.

Tale precauzione è necessaria ad evitare l'eventuale passaggio di germi intestinali nel torrente circolatorio e nella cavità peritoneale, con tutti gli inconvenienti che ne derivano.

Dall'esame dei visceri, specialmente del fegato e del rene e dell'eventuale liquido peritoneale, si possono trarre criteri morfologici talvolta risolutivi per la diagnosi batteriologica.

Tali criteri ci sono forniti dalla possibilità, o meno, di dimostrazione dei filamenti alla superficie dei visceri e della sierosa, la cui presenza od assenza, senza possedere carattere di specificità, è, tuttavia, un criterio di considerevole importanza.

Riassumendo: colla prova biologica (iniezione endoperitoneale), eseguita col sangue del ferito, si presenta: 1^a la *facilità* di una *diagnosi clinica precoce*, 2^a la possibilità di una *diagnosi batteriologica*. Tale duplice eventualità favorevole non è conseguibile con altro metodo d'indagine, non escluse le prove di agglutinazione.

b) Emocoltura. — Il sangue del ferito, prelevato nel modo anzidetto viene insemnato in terreni aerobici ed anaerobici, liquidi e solidi.

Il compito del metodo, anzichè di mezzo diagnostico rapido, è quello di preparare il terreno per lo studio batteriologico. In taluni casi, terreni anaerobici appropriati, come ad es. il brodo glucosato al 2^o/₁₀₀ con aggiunta di muscolo o di fegato, hanno favorito uno sviluppo relativamente rapido, entro le 12-14 ore: di solito però il primo inizio di sviluppo non si ha che verso la 20^a-24^a ora, quando già le condizioni del ferito sono entrate in tutta la classica gravità. Ma anche nei casi di sviluppo pre-

coce, l'orientamento clinico e la diagnosi batteriologica non riescono che molto relativamente avvantaggiati, dovendosi impennare il giudizio diagnostico su caratteri morfologici spesso aleatori. Il metodo tuttavia può servire in tali casi a mettere in evidenza alcuni caratteri colturali come ad es. la modalità del ricambio (eventuale chemismo putrido). Ma ciò non è tutto, non potendosi escludere la associazione di germi a ricambio putrido, per lo più innocui, con germi patogeni non putrefacenti. Per queste considerazioni la prova biologica mantiene un incontestabile primato.

Naturalmente gli esami eseguiti sul sangue, sia sotto forma di inoculazione sperimentale che di emocoltura, presuppongono l'esistenza di stati setticoemici o batteriemici; il che, stando ad alcune concezioni sul passaggio degli anaerobi nel sangue, un tempo predominanti, potrebbe sminuire il valore del metodo. Ma i risultati delle prove biologiche da me eseguite colle iniezioni di sangue nel peritoneo dell'animale dimostrano incontestabilmente la frequenza del reperto positivo nei casi mortali: il che potrebbe indurre a considerare le forme mortali non sempre come esponente di tossi-infezioni pure. Nè infirmo tale concetto le risultanze negative dell'emocoltura in casi tuttavia mortali, quando si riflette: 1°) alle difficoltà di coltivazione di alcuni germi, specialmente nel passaggio dai tessuti organici ai terreni artificiali; 2°) alla possibilità che il prelevamento del sangue sia fatto in un'epoca non rispondente alla presenza del germe in circolo: donde la necessità di prelevamenti ripetuti e l'utilità di poter seguire il ferito nelle varie fasi dell'infezione.

Su 36 emocolture di casi mortali, 27 risultarono positive; 9, negative: in una di queste ultime, la prova biologica riuscì positiva, ma soltanto al 2° prelevamento; con tutto ciò anche l'emocoltura, a quest'ultimo corrispondente, ebbe esito negativo.

Con questo non intendesi negare l'esistenza di forme tossiche pure; ma solo affermare che una tecnica sul genere di quella da me seguita, e consistente in prelevamenti ripetuti, talvolta persino ogni 6 ore, in fasi precoci ed in fasi avanzate (non è esclusa la possibilità della scomparsa dei germi patogeni dal torrente circolatorio e la fissazione di essi nei visceri, specialmente nel fegato), può innalzare la percentuale positiva delle emocolture.

D'altra parte la presenza del germe patogeno, in circolo, è sinonimo di esito mortale? Secondo WEINBERG e SÉGUIN lo stato bacteriemico può non pregiudicare fatalmente la vita del paziente; analogamente pensano ANDERSON e RICHARDSON.

I casi sui quali si appoggiano WEINBERG e SÉGUIN sono i seguenti:

Un soldato, ferito da una granata, presenta fatti di gangrena gassosa alla gamba sinistra e viene amputato al 3° inferiore della coscia in 16ª giornata. Soltanto nel giorno dell'amputazione l'emocultura svela la presenza del *perfringens* e del *fallax*; viene proseguito l'energico trattamento, già iniziato, mediante iniezioni di forti quantità di siero *antiperfringens*, siero *anti-vibrione settico* ed *antioedematiens*. In 7ª giornata dall'amputazione il *perfringens* scompare dalle emocolture, restando il *fallax*. In 10ª giornata, il ferito muore. L'emocultura svela la persistenza del solo *fallax*; all'autopsia vengono messi in evidenza focolai di bronco-polmonite, con presenza del *fallax* e di altri germi nel polmone.

Nel secondo caso l'emocultura, al 2° giorno dalle gravi ferite alle gambe, rivela il *perfringens* e l'*histolyticus*. Il ferito viene amputato e sottoposto ad energica sieroterapia con siero *antiperfringens*, *antioedematiens*, *anti-vibrione settico*. In 4ª giornata da questo trattamento, il *perfringens* scompare dal sangue: l'*histolyticus* vi permane fino al 14° giorno. Il paziente, attraverso gravi vicissitudini, finisce col guarire.

Questi due casi sono senza dubbio molto interessanti; ma più che tutto parmi dimostrino l'efficacia della sieroterapia. A notarsi però in ambedue i casi la presenza, nel sangue, di un germe, il *perfringens*, dotato di potere patogeno tutt'altro che costante. Ma in onta alla scomparsa di esso, nel 1° caso la morte avvenne egualmente e per un germe che non è certo a segnalarsi tra i più patogeni, il *fallax*.

Il 2° caso sarebbe meglio dimostrativo, se non ci trattenesse qualche dubbio sulla virulenza dello stipe del germe, presente nell'emocultura, essendo molto variabile il potere patogeno dei varii campioni di *histolyticus*, a detta degli stessi WEINBERG e SÉGUIN.

Il caso di TAYLOR, nel quale fu trovato il *perfringens* nel sangue subito dopo l'intervento chirurgico praticato su d'un ferito, fa pensare all'A. potersi trattare d'un inquinamento ope-

ratorio. Il germe scomparve successivamente dal sangue ed il ferito guarì. Data la variabile patogenecità dei numerosi stipiti noti di *perfringens*, come sopra fu osservato, vi è a chiedersi se nel caso registrato non potesse trattarsi, più che di una setticemia, di una semplice bacteriemia transitoria.

I 24 casi infine di KLOSE, guariti in onta alla emocoltura positiva, ci ispirano qualche dubbio per l'incerta identificazione del germe, che KLOSE crede vicino al B. di ASCHOFF ed al B. CHAUVOEL.

Delle emocolture da me praticate negli 11 casi non mortali, 5 (45,4 %) risultarono positive. I germi, isolati in coltura pura, si dimostrarono poco o punto patogeni per la *cavia* e pel *coniglio*, tanto per iniezione sottocutanea che intra-muscolare ed endo-peritoneale. I tre tipi isolati non sono identificabili con alcuni dei germi noti delle infezioni gassose.

In 4 di questi casi (ferite di guerra) il germe permase nel sangue per breve tempo (da 7 a 15 ore) dopo l'atto operativo, consistente una volta nell'amputazione della gamba, una volta nell'amputazione della coscia, una volta nella disarticolazione del ginocchio, una volta in generosi sbrigliamenti della gamba, con rimozione di scheggie ossee numerose: la scomparsa del germe in questo ultimo caso fu però più lenta e tardiva.

Nel 5° caso trattavasi di una giovine donna entrata in Nosocomio con frattura esposta dell'avambraccio destro e gangrena avanzata dell'arto, per apparecchio gessato. L'emocoltura risultò positiva qualche ora prima dell'amputazione del braccio al 3° medio, permase tale 10 ore dopo; al 3° esame (18 ore dopo) riuscì negativa.

L'emocoltura positiva di questi cinque casi risultò esclusivamente a *flora anaerobica*: osserviamo solo per incidenza che in 4 di questi cinque casi nei tessuti delle ferite si trovavano presenti, oltre il germe isolato del sangue, anche altri germi e cioè un *proteo* (3 volte), lo *streptococco* (4 volte), il *putrificus* (2 volte), il *perfringens* (3 volte). Dalla piaga del 5° caso (gangrena dell'avambraccio) furono isolati un germe *anaerobio* ed un *cocco* a breve catenella.

Nelle ferite ad emocolture negative 2 volte risultò la presenza del *perfringens*: inoltre, del *putrificus* (4 volte), *sporogenes* (2 volte), di altri anaerobi (3 volte) e di cocchi.

In 5 casi quindi si verificò il passaggio nel sangue di un

germe non patogeno, quantunque tre volte fossero presenti nei tessuti anche germi patogeni del tipo *perfringens*. Evidentemente in tali casi ebbe a trattarsi di *bacteriemie*, nelle quali il passaggio nel sangue di soli germi pressochè innocui era stato agevolato dalle condizioni di minore resistenza, nelle quali vennero a trovarsi i tessuti locali e l'organismo. L'intervento sollecito aveva fortunatamente impedito l'entrata dei germi patogeni nel sangue nei tre casi nei quali le ferite ne risultarono contaminate e che furono trattati colla demolizione.

Riassumendo: il passaggio nel sangue di germi anaerobi patogeni deve considerarsi, in linea di massima, come indice di caso mortale: WEINBERG e SÉGUIN stessi l'ammettono, quando scrivono che la facilità del germe a penetrare nel sangue è *in ragione diretta della sua potenzialità « omicida »*.

Nei nostri 27 casi di infezione gassosa ad emocoltura positiva, l'esito, come si disse, fu mortale. A tutti questi casi corrispose positivamente la prova biologica.

Che possa ritenersi compatibile l'esito favorevole colla presenza in circolo di germi del tipo patogeno non può forse negarsi in via assoluta, ma in tali casi è a chiedersi se non possa trattarsi, come già sopra si è detto,

1°) di *bacteriemie transitorie*, nelle quali cioè il germe entra saltuariamente in circolo ed irregolarmente vi permane, come anche in alcuni casi di infezioni piogene locali gravi, nei quali si hanno gettate saltuarie di cocci virulenti in circolo, senza che con ciò possa parlarsi di stati setticoemici.

2°) di *stipiti attenuati di germi patogeni*. È per questo che l'emocoltura sola non è sufficiente, anche volendosi ammettere l'attendibilità del criterio morfologico, nella diagnosi di specie, per un giudizio definitivo; donde, il vantaggio preminente della prova biologica, di non difficile esecuzione e di valore decisivo nella grande maggioranza dei casi, per una rapida diagnosi clinica.

Ai vantaggi ricavati dall'esame del sangue (*emocoltura e prova biologica*) si sottraggono naturalmente i casi di infezione a tipo *tossico*. Come sopra si è osservato però, il numero di questi casi, col migliore disciplinamento delle indagini, è forse suscettibile di riduzione (emocoltura e prova biologica eseguite nelle varie fasi e ripetute a seconda delle circostanze).

Sopra 39. emocolture, riferentisi a ferite inquinate con anae-

robi patogeni, ⁽¹⁾ 27 e cioè il 69.2 % risultarono positive, 12 furono negative. Di questi 12 casi, 4 finirono letalmente. A notarsi però che di questi casi letali, ad emocoltura negativa, 1 risultò positivo alla prova biologica, talchè sommandolo alle 27 emocolture positive si arriverebbe ad una percentuale positiva pari al 71.7 %.

Queste cifre, che ci mettono in evidenza l'altissima percentuale globale colla quale i germi patogeni delle infezioni gassose passano nel sangue, ci rivelano anche che la percentuale delle morti col germe in circolo è ancor più alta, aggirandosi sul 75 % (27 esiti positivi su 36 emocolture in casi mortali) e che, per conseguenza, le forme tossiche debbono venire confinate entro limiti modesti.

Non negasi che queste conclusioni risentano in parte delle condizioni di peculiare gravità presentate dai miei feriti ed in parte siano legate alla scarsità dei reperti di germi prevalentemente tossici, contrariamente all'alta percentuale riscontrata ad es. da WEINBERG e SÉGUIN (*oedematiens* - 24,1 % dei casi globali, 30,7 % dei casi mortali); resta tuttavia il fatto che la grande maggioranza dei casi letali si verificò colla presenza del germe nel sangue, rilevabile o coll'emocoltura o colla prova biologica. Donde, tutto il valore prognostico e diagnostico dei metodi di esame, sui quali abbiamo insistito.

Tessuti.

L'esame può venire eseguito:

- 1°) a livello della ferita.
- 2°) nel liquido di edema, sottocutaneo e profondo.
- 3°) nel liquido di vescicole, locali o a distanza.

Negli esami 1°) e 2°) si ha costantemente a che fare con flora mista, a meno che il liquido di edema non sia attinto molto lontano dalla ferita.

Il liquido delle vescicole, specie se a distanza, fornisce con molta frequenza utilissimi insegnamenti, inquantochè ci rivela

⁽¹⁾ 36 infezioni gassose mortali e 3 casi di ferite, inquinate da anaerobi patogeni (*perfringens*), decorsi a guarigione.

la flora batterica principale e caratteristica, il più spesso libera da associazioni comuni (piogeni e saprofiti).

L'esame può essere bacterioscopico, colturale e biologico.

Esame bacterioscopico. — Il vantaggio che da questo può ritrarre la diagnosi bacteriologica è molto relativo, specialmente quando trattasi di materiale attinto dai tessuti della ferita o dalle immediate vicinanze, a flora molto complessa, nella quale ai germi patogeni sono commisti aerobi ed anaerobi non patogeni, morfologicamente affini.

Nel liquido di edema, attinto a distanza, e nel liquido di flittene, i risultati possono essere alquanto più precisi, inquantochè la flora batterica è meno complessa.

L'esame in goccia pendente offre il criterio importante della mobilità. Non bisogna obliare però che il carattere della semenza non è sempre constatabile colla evidenza che sarebbe desiderabile e che germi, mobili molto evidentemente nei liquidi patologici, poco o punto lo risultano nei liquidi di coltura.

La forma, la sporificazione, sono caratteri istruttivi, se si ha ragione di ritenersi dinanzi ad una flora specifica, ma il valore di essi diminuisce naturalmente nei casi di flora complessa, con presenza di patogeni e saprofiti.

Negli strisci colorati la resistenza o meno al metodo di GRAM può riuscire di qualche aiuto, se unita ad altri criteri.

In sostanza, quindi, dall'esame bacterioscopico noi non possiamo attenderci se non chiarimenti di importanza subordinata, per la diagnosi bacteriologica.

Esame colturale. — L'insemenzamento in terreni liquidi può fornire un criterio utile, che è relativo al carattere del chemismo, se putrido o meno, e alle proprietà gassogene. L'esistenza del chemismo putrido è di carattere decisivo per affermare la presenza di germi putrefacenti, in linea di massima non patogeni; non si può con ciò escludere la presenza di anaerobi patogeni, non putrefacenti. Lo sviluppo invece di una coltura con gas abbondante e senza chemismo putrido, ma con emanazione acida, butirrica, più o meno manifesta, talvolta anche con leggero odore sgradevole, depone per la presenza di anaerobi patogeni. Tale evenienza non è però facile a verificarsi e si può osservare negli insemenzamenti con liquido di edema, prelevato a distanza e, più facilmente, in quelli fatti con liquido di vescicola, aspirato asetticamente mediante un ago cannula.

La coltura così ottenuta rappresenta un primo passo verso la diagnosi batteriologica ed è criterio di grande importanza per la diagnosi clinica.

Prova biologica. — Può venire utilizzata specialmente come prova complementare dell'esame del sangue e particolarmente nei casi, nei quali, essendo questo fallito, si ha ragione di ritenersi dinanzi a quadri prevalentemente tossici.

Meglio che col materiale di ferita, la prova può essere eseguita col liquido di vescicola, e ciò, come è ovvio comprendere, allo scopo di adoperare materiale il più possibilmente libero da associazioni banali. L'inoculazione viene eseguita sotto-cute.

WEINBERG e SÉGUIN consigliano anche, per una diagnosi batteriologica indiretta, di inoculare da una parte il solo materiale infetto, dall'altro lo stesso materiale più un *antisiero*, che si presume corrispondere al germe inoculato. Fino dagli ultimi mesi del 1916 tentai qualche prova io pure in tal senso, mediante siero *antivibrione*, *antiperfringens* ed *anti-gangrenoso*, fornitomi dalla Direzione dell'Istituto sieroterapico milanese: i risultati però non corrisposero all'aspettativa.

Di questo metodo o *metodo della neutralizzazione* parleremo a proposito della diagnosi di specie.

Visceri.

Il prelevamento del materiale di autopsia, specialmente dei visceri addominali, è suggerito dalla necessità di vagliare alcuni quesiti che si presentano nello studio della flora anaerobica, come la sporificazione, la formazione dei filamenti, il luogo di fissazione del germe, più frequente od elettivo. Per tale studio il prelevamento deve essere quanto mai precoce, senza di che ogni giudizio può riuscire di attendibilità molto relativa. A questo scopo io mi valse spesso di autopsie parziali, con esito soddisfacente. In otto casi, il prelevamento dei visceri fu eseguito a pochi minuti dalla morte e queste costituiscono osservazioni particolarmente utili dal lato batteriologico, senza contare che l'autopsia immediata mette in grado di affrontare uno degli argomenti più discussi, cioè quello della aereazione viscerale, specialmente del fegato (*organi schiumosi*).

Dei visceri prelevati sterilmente mi servii talvolta per ripetere la prova biologica, fosse o no essa già stata eseguita col sangue.

Mettendo a contributo tutti i mezzi di indagine sopra riferiti, una diagnosi batteriologica su base morfologica talvolta riesce possibile.

Le prove di agglutinazione, specialmente su materiale a flora semplice, come quello, spesso, del liquido di vescicola a distanza dal focolaio, possono venire utilizzate, disponendo di *antisieri* specifici.

In questi ultimi tempi, possedendo qualche antisiero agglutinante da me preparato nel coniglio, e, ripetendo la prova sui liquidi patologici dell'animale da esperimento, con flora anaerobica anche impura, ottenni risultati di un qualche interesse; l'agglutinazione però, talvolta, avvenne per due germi differenti, ad es. un vibrione settico ed un anaerobio putrefacente, non patogeno.

WEINBERG e SÉGUIN notano lo stesso fatto per la coltura ad es. del *v. settico* e del *perfringens*. Secondo questi AA., se i due germi si trovano presenti con una forte sproporzione, in modo che il germe corrispondente all'antisiero sia in sensibile maggioranza, l'agglutinazione avviene anche pel germe in minoranza, ed è totale. Se invece le proporzioni sono eguali, l'antisiero agglutina in totalità il germe corrispondente, più una parte sola del secondo germe.

Questi fatti ci dicono come la prova dell'agglutinazione su materiale a flora complessa abbia un valore soltanto complementare e che, specialmente nella diagnostica di prodotti patologici, essa debba circondarsi di molte cautele, tenendosi sempre presente la possibilità di *agglutinazioni non specifiche, d'agglutinazioni di gruppo e di auto-agglutinazioni* ⁽¹⁾.

CAPITOLO II.

Insemenzamento ed isolamento.

Insemenzamento. — Per gli aerobi soddisfano i comuni terreni liquidi; l'*agar* al sangue, la *gelatina*, fra i mezzi solidi, possono venire adoperati, anche come terreni per la coltura diretta dai prodotti patologici.

(1) V. al proposito il lavoro di ZIRONI e CAPONE — *Lo Sperimentale*, anno LXXIII.

Per gli anaerobi, l'insemenzamento diretto in terreni solidi, fatto dal sangue e dai liquidi patologici, è indicato specialmente per lo studio della colonia; l'agar, sotto quest'ultimo riguardo, è preferibile alla gelatina, per la frequentissima proprietà fondente dei germi in esame.

I mezzi liquidi che servono meglio allo scopo, sono: il *brodo Martin* glucosato all'1-2⁰/₁₀₀, il *brodo di fegato di bue*, il *brodo di cavallo*, allestiti mediante aggiunta di pezzi di fegato o di muscoli sterilizzati (metodo TAROZZI modificato) ⁽¹⁾.

Sotto parecchi rapporti può riuscire utile la bile di bue, nella quale lo sviluppo del germe può offrire particolarità interessanti per la differenziazione.

Da alcuni AA. viene anche usato il brodo comune di carne, con aggiunta di un pezzetto di fegato; eseguito l'insemenzamento, il brodo viene ricoperto con uno strato d'olio sterile.

Il metodo di NENKI-BUCHNER al *pirogallato* di potassa fu da me adoperato con vantaggio, in determinate circostanze (ricerche sul potere saccarolitico, colture in agar a becco di flauto, colture su patata); i risultati non furono tra i più incoraggianti.

Il brodo TAROZZI, preparato nel modo come sopra, rigenerato volta per volta prima dell'uso con 30' di bollitura e subito raffreddato, rappresenta il mezzo di coltura consigliabile. Esso risponde ottimamente sia per la coltivazione dei germi dai tessuti patologici, come per i trapianti delle colonie in agar e per l'allestimento dei mezzi liquidi occorrenti.

Il brodo MARTIN può essere indicato specialmente per la preparazione delle tossine; esso fu da me allestito volta per volta coll'aggiunta di un frammento di fegato o di muscolo.

Altri terreni liquidi (brodo all'uovo, latte, sangue, liquido ascitico, brodo di cervello) vengono impiegati per determinati scopi, dei quali sarà tenuto parola.

Isolamento. — Per gli aerobi, stretti o facoltativi, servono o i tubi di agar inclinato, o, meglio, le comuni piatte.

Per gli anaerobi può servire o l'agar in tubi, ad alto strato secondo il metodo di VEILLON-LIBORIUS o l'agar in piatte di PETRI secondo SANFELICE-MARINO. L'agar può essere glucosato o non glucosato. Pei germi fortemente saccarolitici è preferibile

⁽¹⁾ FASIANI e ZIRONI, *Lo Sperimentale*, Anno LXXI.

l'agar senza glucosio. L'agar può venire preparato con brodo al fegato o con brodo alla pancreatina (secondo SINIGAGLIA), oltre che col comune brodo di carne, di bue o di cavallo.

Il metodo VEILLON-LIBORIUS deve essere eseguito con tubi il più possibilmente larghi, tali cioè da permettere una superficie di sezione notevole. Sviluppatesi le colonie, se l'inseminamento è stato eseguito nelle debite proporzioni, in modo da avere colonie l'una dall'altra separate, si può cercare di prelevarle una per una, aspirandole con una sottilissima pipetta capillare. Tale pratica però offre quasi sempre notevolissime difficoltà, talchè è necessario ricorrere o alla rottura della provetta o al riscaldamento prudente di essa, specialmente sul fondo, mentre vien mantenuta orizzontale. Con quest'ultimo metodo molte volte si riesce ad espellere il cilindro di agar dal tubo ed a raccoglierlo in una larga scatola di PETRI sterile. Il cilindro di agar viene allora tagliato col coltello, volta per volta sterilizzato alla fiamma, in dischi di 4-5 millimetri di spessore.

Da questi dischi è allora facile attingere le colonie, servendosi del comune ago di platino.

La seminazione nei tubi si compie colla solita tecnica delle diluizioni progressive: l'agar, prima dell'inseminamento, viene bollito per 30' e poi lasciato raffreddare a 50°. Seminato il materiale, i tubi vengono immersi nell'acqua fredda per un rapido consolidamento del terreno.

Questo metodo ha il pregio di offrire un abbondante strato di agar; presenta l'inconveniente della indaginosa pesca della colonia, se questa viene eseguita colla pipetta, o della talvolta difficile estrazione del cilindro di agar.

L'isolamento nelle capsule di PETRI, col metodo di SANFELICE-MARINO, elimina le difficoltà del prelevamento della colonia; presenta tuttavia pur esso qualche difetto che va ricordato, ma che da alcuni (JUNGANO e DISTASO) gli è stato a torto soverchiamente rimproverato. Esso consiste nella eventualità seguente: il gas e l'acqua di condensazione che talvolta in larga misura si formano al di sotto della 3^a piastra, possono essere causa che una colonia venga ad essere inquinata con materiale proveniente da una colonia differente, difetto questo più apparente che reale, in quanto che, essendo lo sviluppo delle colonie anaerobico, esse crescono sempre nello spessore dell'agar, ed eccezionalmente fra agar e vetro; l'inquinamento suddetto riesce quindi molto pro-

blematico. Ad ogni modo è bene tener presente tale possibilità ed esaminare la piastra prima che la rottura dell'agar e la formazione di acqua di condensazione abbiano raggiunto il limite pericoloso.

JUNGANO e DISTASO fanno rilevare che il distacco della piastra interna frantuma la superficie dell'agar e fa perdere di vista le colonie in esame; ma tale inconveniente, secondo me, è eccezionale. In molte centinaia di piatte così allestite, il distacco della 3^a piastra si verificò, si può dire, quasi costantemente senza la minima disgregazione dell'agar, il quale rimane a ricoprire il fondo inferiore. Ma anche quando la terza piastra trae con sé porzioni dell'agar, l'inconveniente è pressochè nullo, se si è avuto la precauzione di segnare, sulla sua faccia superiore, la colonia o le colonie in esame, come si fa sulla piastra esterna.

Riguardo poi alla possibilità di inquinamento dell'agar all'atto in cui questo viene versato nella capsula, essa è facilmente eliminabile mediante adatta tecnica.

Il metodo delle piatte, così eseguito, è un ottimo mezzo di isolamento e di rilievo delle colonie. Non è infrequente il caso di riuscire ad ottenere nello spazio della terza piastra 4-8-10 colonie e talvolta anche meno, in modo che il prelevamento riesce quanto mai facile ed al riparo da ogni pericolo di inquinamento.

Se a questo si aggiunge la facilità colla quale viene permesso il rilievo fotografico della colonia nelle varie fasi, è ovvio comprendere tutto il vantaggio del metodo. Le figure della pag. 479 dimostrano le modalità di tale sviluppo. L'allestimento delle piatte si esegue insemenzando tubi di 25-30 cc. di agar, bollito per 30' e raffreddato a 50°; l'insemenzamento si fa colle solite diluizioni progressive. Non è a dimenticare però che talvolta lo sviluppo anaerobico può mancare, in onta allo strato relativamente alto, fino a 1 cc. di agar, che resta a coprire il fondo della piastra inferiore. In tali casi, nei quali evidentemente l'insuccesso è legato alla presenza dell'ossigeno che resta imprigionato, è necessario ripetere la prova, con insemenzamento di diverso grado e talvolta molto abbondante.

Altra causa di insuccesso può essere l'insufficiente alcalinità dell'agar, nella quale, per conseguenza, è sempre bene abbondare.

Il metodo delle piastre smerigliate TAROZZI offre pure buoni risultati; è stato da me impiegato con successo, adoperando agar alla pancreatina.

Col metodo MARINO-SANFELICE. lo sviluppo degli anaerobi si verifica esclusivamente nell'ambito della terza piastra, e



spesso, addirittura soltanto nel centro di questa. Talvolta però, se l'inseminamento è stato abbondante, se lo strato di agar è

risultato molto alto, se l'anaerobismo del germe non è strettissimo, si può osservare sviluppo anche al difuori della terza piastra; in questo caso però, esso avviene costantemente in profondità, ripetendosi le condizioni dei tubi alla VEILLON-LIBORIUS.

Per la presenza di aerobi e di anaerobi facoltativi, possono aversi notevoli difficoltà nell'isolamento, particolarmente nelle eventualità dei germi attinti direttamente dai tessuti. Il metodo di CHOUKÉVICH (insemenzamento in agar a 90°-95°) può facilitare il compito, se gli anaerobi del liquido in esame sono sporulati. In tal caso, l'alta temperatura elimina pressochè costantemente gli aerobi e talvolta gli anaerobi facoltativi, per lo più asporigeni. Nel caso contrario, essa uccide anche gli anaerobi che si vogliono esaminare, a meno che non trattisi di forme, le quali, pur essendo abitualmente asporigine, offrono una forte resistenza al riscaldamento (*perfringens*): in tal caso però giova limitare la temperatura (75°), protraendone la durata (30') o procedere a riscaldamenti ripetuti e di minor durata (15').

All'infuori di questi casi, il metodo non trova applicazione. È necessario allora, o procedere per tentativi pazienti (insemenzando in larghe capsule), o cercare di ottenere il germe dal sangue, dai visceri (spec. dal fegato). La facilità e, si può dire, la costanza della diffusione del germe nel circolo sanguigno dell'animale ricettivo, può rendere consigliabile tale procedimento; naturalmente bisogna tenersi preparati a ritrovare, anche nelle colture dal sangue o dai visceri, i germi che si vogliono eliminare; caso però di frequenza non molto notevole.

Ottenutosi l'isolamento, il trapianto delle singole colonie viene eseguito colle solite norme di tecnica, nell'intervallo di tempo più breve che sia possibile. Il brodo TAROZZI glucosato al 2‰ è il mezzo più acconcio per lo sviluppo della colonia trapiantata. Qui, più che per gli insemenzamenti dai liquidi, conviene disporre di brodo notevolmente alcalino e di tubi, dai quali l'ossigeno sia stato scacciato nel modo migliore possibile, mediante una bollitura prolungata per 30'-40' e rapidamente raffreddati, con l'immersione in acqua fredda.

I casi di insuccesso, seguendo questa tecnica, rappresentano una percentuale molto bassa.

CAPITOLO III.

Identificazione e Classificazione.

I criteri per la diagnosi batteriologica sono *diretti* ed *indiretti*.

Appartengono ai *primi*: le proprietà patogene, biochimiche e colturali del germe, la morfologia sì del microrganismo come della colonia, la capacità e modalità di sporificazione e di colorazione, la mobilità.

Sono criteri *indiretti* quelli che si derivano dalle prove di agglutinazione, di neutralizzazione, precipitazione, deviazione del complemento, ecc. ecc.

Le proprietà patogene offrono il mezzo di sperimentare la virulenza del germe nei riguardi dei diversi animali, di determinare le lesioni anatomico-patologiche prevalenti e di mettere in vista le modalità colle quali il germe si sviluppa nei tessuti ed organi dell'animale ricettivo. Pur non costituendo un criterio assoluto, l'estrinsecarsi di tali proprietà può fornire una buona norma di orientamento.

Le proprietà biochimiche nella classificazione degli anaerobi delle ferite meritano la massima considerazione; esse ci permettono anzitutto di designare due principali raggruppamenti di germi: *putrefacenti* e *non putrefacenti*. Appartengono ai primi i germi saprofiti o scarsamente patogeni, ai secondi gli anaerobi patogeni delle ferite da noi studiate.

A vero dire, questa asserzione parrebbe dovesse essere contraddetta da quanto v. HIBLER scrive a proposito del suo *B. X*. Esprimemmo già a suo tempo la probabile ragione della controversia; possiamo qui aggiungere che non infrequenti volte ci occorre l'occasione di esaminare colture forniteci da Istituti diversi, classificate come appartenenti al *B. dell'edema maligno*. Orbene, nessuno dei campioni a chemismo putrido, esaminato, risultò minimamente patogeno per l'animale da esperimento, anche in dosi fortissime (5 cc. di coltura di 36 ore per 300 g. di cavia) ed il complesso delle indagini portò a classificare tali germi tra i comuni anaerobi della putrefazione (gruppo del *putrificus* di BIENSTOCK, *paraputrificus*, *b. pseudo-tetanicus*).

La questione merita di venire discussa anche per il *perfringens*. ACHALME, tra le caratteristiche colturali del germe, richiama l'attenzione sul potere digestivo delle sostanze proteiche, tanto considerevole da dar luogo a sviluppo di H^2S , di tirosina e di

ammoniaca, e sull'annerimento del brodo, contenente bianco d'uovo cotto: in altri termini, il germe avrebbe proprietà putrefacenti abbastanza spiccate.

ROSENTHAL distingue una varietà a chemismo *putrido* ed una a chemismo *non putrido*.

Le osservazioni da me condotte sopra gli stipiti isolati dalle ferite di guerra, tutti patogeni, su 7 campioni fornitimi dall'Istituto di Patologia generale di Modena, tre dei quali debolmente patogeni, e su due dell'Istituto Pasteur mi portano a concludere per il carattere non putrefacente del chemismo dei campioni da me esaminati, dei quali alcuni dotati di attività proteolitiche non indifferenti ad es. sul siero di bue coagulato.

WEINBERG e SÉGUIN accennano a formazione di pigmento nero nelle colture in brodo MARTIN glucosato al 2^o/₁₀₀, ma non riscontrarono odore putrido nè nel brodo MARTIN con bianco d'uovo, nè nel brodo al sangue, nè nel brodo alla carne.

Probabilmente le numerose varietà del germe danno ragione dei risultati contraddittori. Come linea di massima però credo che si debba essere autorizzati a scindere il *perfringens* dai germi classicamente putrefacenti, le colture liquide dei quali sono facilmente contrassegnate prima dalla tinta verde-scura e poi dall'annerimento del liquido ed anche del frammento di tessuto, oltre che dall'odore fetido più o meno potente. Della concezione di CONRADI e BIELING, sulla possibilità di trasformazione di germi non putrefacenti, già facemmo menzione. Su di essa però non ci mancherà occasione di ritornare.

Le proprietà *saccarolitiche* sono un mezzo di valore per l'identificazione di specie ed anche di stipite.

Già si disse che la distinzione del *perfringens* in gruppi fu tracciata da SIMONDS sul criterio del potere fermentativo spiegato sui vari zuccheri dai diversi stipiti del germe.

Alcune varietà di *v. settico* presentano pure proprietà saccarolitiche individualizzate. Inversamente, i poteri fermentanti sugli zuccheri possono riavvicinare specie, per altri caratteri l'una dall'altra differenziate.

Il criterio morfologico del germe può sovvenire in determinate condizioni e per determinate specie; tra queste, il *perfringens* è dei meglio individualizzabili, almeno nella sua forma classica: non bisogna però dimenticare la possibilità di deviazione di forma e di disposizione degli elementi, fino ad osservarsi, talora, vere forme filamentose.

Il *v. settico* offre pure qualche particolarità di conformazione e di struttura, sulle quali può fondarsi talvolta la diagnosi; come vedremo, tanto nelle colture liquide che nell'agar il germe si presenta con alcune caratteristiche, le quali valgono a differenziarlo in modo ben preciso; aggiungiamo anche le modalità di forma in alcuni tessuti e parenchimi, ad es. la conformazione a filamenti sulla superficie del peritoneo e del fegato. Tale carattere tuttavia non è assoluto, poichè, mentre può mancare anche per un identico stipite, è talvolta presentato da germi ritenuti differenti dal *vibrione*, ad es. una varietà di *C. sintomatico* da me studiato.

La morfologia della colonia in agar è un criterio di *buona probabilità*, ma non assoluto; acquista valore se vagliato in alcuni particolari, per la messa in evidenza dei quali occorrono prove di accertamento e mezzi pazienti di esame. Nelle sue linee generali tale criterio si riassume: nella presenza di colonie a tipo aperto, altrimenti dette a *batuffolo di ovatta*, a *fiocco di neve*, ed a tipo chiuso o colonie *lenticolari*, a margini netti, o, tutt'al più, con una corona di corti e sottili filamenti che si dipartono da un centro compatto, denso.

La colonia a « *cuor giallo* » che WEINBERG e SÉGUIN per un momento ritennero caratteristica, è invece di reperto banale.

Vedremo, durante lo svolgimento dell'argomento, come il tipo fondamentale di una colonia possa presentare, per condizioni diverse di terreno e forse anche per mutate attitudini di germe, modificazioni profonde, tanto da ingenerare dubbi di interpretazione.

Più volte occorre a me il fatto, e solo con ripetute prove potei convincermi di alcune possibilità, prima non sospettate.

Il criterio della sporificazione può riuscire di vantaggio per un orientamento rapido. È noto, come i germi del gruppo *perfringens* nei mezzi comuni sporulino con estrema difficoltà e quasi mai nei liquidi patologici; ugualmente si dica per qualche altro germe sul tipo ad es. di quello che WEINBERG e SÉGUIN descrivono sotto il nome di *fallax*. D'altra parte è provato che, neutralizzando l'acidità del brodo man mano che essa si forma, o, meglio, mantenendo alcalino il mezzo, la sporulazione compare. Così pure, è possibile ottenere la sporificazione di germi abitualmente non sporigeni coltivandoli in terreni speciali: ad es. il liquido di ascite tubercolare a me fornì buoni risultati al riguardo.

D'altra parte, alcuni terreni non favoriscono la sporificazione di taluni germi abitualmente sporigeni, ad es. la bile di bue. Tutte queste eventualità non tolgono valore al criterio della sporulazione, considerata come manifestazione abituale del ciclo biologico di una determinata specie.

Ma il criterio della sporificazione può venire utilizzato anche come termine di raffronto, fra disparate tendenze a sporificare, di germi vari, nei diversi terreni di coltura. Alcuni germi ad es. non sporificano nei mezzi zuccherati, altri molto stentatamente in agar; negli uni la sporulazione è abbondante nel latte, negli altri vi manca. Per alcuni germi la sporificazione nel sottocutaneo degli animali da esperimento è facile a verificarsi, per altri essa rappresenta l'eccezione.

Queste eventualità sono degne di menzione; ma sarebbe imprudente affidarsi ciecamente ad esse per una diagnosi differenziale; possono infatti essere offerte volta a volta da stipiti di una stessa specie, come io potei constatare per germi patogeni e come WEINBERG e SÉGUIN videro a proposito del campione *B. NOVY*, da essi esaminato e trovato sporigeno nei tessuti e nel brodo glucosato, mentre lo stesso germe, secondo NOVY, KERRY, v. HIBLER, sarebbe asporigeno nelle suddette condizioni.

Riguardo alla forma, situazione e volume della spora, per alcune specie si hanno caratteri di fissità, che mancano per altre. Tra le prime vanno menzionate particolarmente le specie saprofitiche o scarsamente patogene, come ad es. il gruppo del *putrificus* di BIENSTOCK, dello *sporigeno* di METCHNIKOFF, del *B. tertius*; il gruppo del *v. settico* invece offre frequenti varianti nella situazione della spora; lo stesso dicasi del *perfringens* e di altri germi patogeni, nei quali, inoltre, la sporificazione può presentare un altro carattere e cioè la marcata tendenza alla spora libera.

Circa le proprietà coloranti, nel metodo di GRAM abbiamo un criterio che può riuscire decisivo, se applicato in determinate condizioni ed eseguito colle dovute norme. Non bisogna però dimenticare che il valore del metodo è subordinato a condizioni molteplici, tra le quali ad es. l'età del germe e forse anche il terreno di coltura.

Il criterio della mobilità non dovrebbe mai andare disgiunto da quello della presenza delle ciglia. Ma, date le difficoltà talvolta non indifferenti della dimostrazione di queste, il solo

carattere della mobilità viene con maggiore frequenza ricercato per gli usi correnti.

Nell'esame in goccia pendente però è d'uopo della massima circospezione per valutare esattamente il carattere della semovenza. Anzitutto è da evitarsi l'eventualità di esaminare germi in auto-agglutinazione, quindi s'impone la necessità di colture recenti. Alcuni germi debbono venire sottratti nel modo migliore al contatto atmosferico, ed a quest'uopo può rendersi necessario l'esame del liquido entro tubetti capillari chiusi alla lampada: operando con rapidità però e facendo uso di soluzioni adatte per l'esame dei germi in agar (acqua peptonata con aggiunta di bianco d'uovo), si può utilizzare il comune vetrino incavato, al quale si fa aderire il coprioggetto, mediante un opportuno strato di vaselina.

Ad onta di tali precauzioni tuttavia, la mobilità può riuscire difficilmente dimostrabile ed allora il dubbio deve essere risolto colla ricerca delle ciglia.

La mobilità dei germi è varia; dalla classica semovenza serpentina, ondulatoria, descritta da PASTEUR pel *vibrione settico*, a quella del *colpo di coda di pesce*, di *vorticosità*, *elicoidale*. Di sicura interpretazione è il movimento di *traslazione*, impossibile ad equivocarsi coi movimenti trasmessi, ma non sempre facile a riscontrarsi, anche per germi indiscutibilmente mobili, quali il *v. settico*.

Caratteristici possono essere anche i movimenti *vorticosi* ed *elicoidali*; sempre molto dubbi i *movimenti vibratorii*.

La mobilità di uno stesso stipite è varia a seconda del mezzo; il liquido peritoneale meglio si presta, in linea di massima, che non il liquido di edema, ad osservare la mobilità attiva: i terreni proteici sembrano più favorevoli dei glucosati: i comuni mezzi artificiali di coltura meno dei liquidi patologici. Pare anche che per alcuni germi, come ad es. il *vibrione settico*, la mobilità sia inversa alla acidità del liquido di coltura. La temperatura più confacente allo sviluppo è anche quella che meglio si presta all'osservazione dei movimenti attivi.

Aggiungiamo infine, ma senza volerne fare un carattere essenziale, che gli anaerobi saprofiti delle ferite presentano in linea generale una mobilità molto più vivace che non i germi classicamente riconosciuti come patogeni.

Del valore delle prove di *agglutinazione* per la diagnosi di

specie già dicemmo più sopra. Ritenuto considerevole e decisivo da alcuni, è relegato in sott'ordine da coloro (FURTH), che considerano l'agglutinabilità come proprietà molto labile ed incostante.

Seguendo una via di mezzo, e circondandola delle debite precauzioni, sì di tecnica che di interpretazione, è da ritenersi la prova dell'agglutinazione qual mezzo di non disprezzabile efficacia per l'identificazione.

La prova della *neutralizzazione* trova qui, meglio che per gli esami di liquidi a flora complessa, la sua applicazione. Naturalmente essa presuppone il possesso di un siero anti-infettivo-anti-tossico efficacemente attivo. Per l'identificazione di specie e campioni di varia provenienza essa mi ha fornito apprezzabili risultati.

Le prove di *precipitazione*, le *anticomplementari*, ecc. ecc., sono meno facilmente utilizzabili (¹).

CAPITOLO IV.

Reperti bacteriologici - Note cliniche ed anatomiche.

I casi di forme gassose particolarmente studiati furono 69, dei quali 45 mortali (65.2%). L'alta percentuale di mortalità globale e quella, naturalmente più elevata, delle infezioni gassose classiche è spiegata dalla qualità dei feriti da noi raccolti ed esaminati nei reparti *intrasportabili*, che volta a volta venivano a costituirsi nelle Unità di 1^a linea. Le cifre da me riportate quindi rilevano uno stridente contrasto colle statistiche di altri studiosi, che di tali osservazioni si sono occupati, tra i quali ad es. LARDENNOIS e BAUMEL, DUVAL, SEEFISCH i quali per le forme gassose, dichiarate, danno una mortalità molto bassa o addirittura insignificante.

Come da premessa, io non riferirò che sul materiale dei 69 casi su ricordati, dei quali 68 di feriti di guerra, trascurando i restanti, data l'incompletezza delle indagini, delle quali essi furono oggetto.

I 69 casi vanno così distribuiti:

Gangrena gassosa.	N. 51	morti 44	86 %
Flemmone gassoso	» 5	» 1	20 %
Forme putride.	» 13	» —	—

(¹) Consultare al riguardo il recente lavoro di FASIANI: « Preparazione e studio di sieri immuni ecc. ecc. », *Archivio ital. di chirurgia*, Fasc. I, pag. 35, 1919.

Sarebbe desiderabile potere inquadrare in tipi anatomici i reperti batteriologici ottenuti. Ma ciò non è possibile per ragioni ben note, tra le quali la complessità della flora e l'attitudine di un determinato germe a provocare stati anatomici non sempre uniformi.

Io mi limiterò quindi ad integrare i risultati delle ricerche batteriologiche col riassunto dei fatti anatomici rilevati, cercando di formare qualche gruppo sulla base di fenomeni, volta a volta preminenti nel quadro morboso.

Conseguentemente alla direttiva seguita nelle indagini batteriologiche sul vivente esporrò in tre sezioni separate:

- 1^a) le *ricerche sul sangue*;
- 2^a) le *ricerche sui tessuti*;
- 3^a) le *ricerche sul materiale di autopsia*.

SEZIONE I.

Ricerche sul sangue.

I. Infezioni gassose classiche.

a) *Flora anaerobica.*

I.° Gruppo.

N.° 5 casi : (9 ottobre - 7 dicembre 1916).

Sede della ferita. — Dorso-scapola, 2 volte; regione del fianco destro, 1 volta; arto inferiore, 2 volte.

Quadro anatomico prevalente. — *Arrossamento vinoso ed edema della cute; poco gas, fortissima quantità di liquido sanguinolento nerastro nel sotto-cutaneo, muscoli compatti, rossi e rosso-scuri; l'arrossamento della cute ha limiti netti ed occupa una larghissima zona attorno alla ferita, qua e là è interrotto da chiazze violacee; qualche piccola vescicola con liquido nerastro, variamente sparsa.*

Prelevamento del sangue per emocoltura e per prova biologica; rispettivamente alla 16.^a, 19.^a, 27.^a e 43.^a ora dal fermento.

Sopravvivenza dei feriti: da 32 a 50 ore.

Tutte le cavie iniettate in peritoneo morirono fra la 6.^a e la 16.^a ora. Dal sangue del cuore, attinto colla aspirazione *in vivo* o immediatamente all'atto della morte dell'animale, furono alle-

stite colture in agar alto strato, in brodo TAROZZI e in brodo MARTIN, analogamente a quanto era stato fatto col sangue attinto dal ferito.

In tutti gli agar, tanto preparati col sangue del ferito che col sangue di cavia, si ottenne sviluppo di sola flora anaerobica, meno che in una serie di tubi preparati col sangue di una delle cavie del caso 3° (11 novembre 1916), nel quale si ebbe anche sviluppo in superficie di un cocco, identificato per lo *stafilococco albo*. Colle colture in brodo furono eseguiti insemamenti ad alto strato in gelatina al 20% ed in agar glucosato, preparato con brodo di fegato di bue o di muscoli di cavallo. Le colonie sviluppatesi ripeterono in agar i caratteri di quelle ottenute nei tubi, in primo tempo insemizzati col sangue.

L'esame del germe sì delle une che delle altre, come delle colture in brodo tanto del primo insemenzamento come di un secondo, eseguito col trapianto delle singole colonie dall'agar nel terreno liquido, confermò la grande affinità e, diremo, l'identità dei cinque campioni, se si eccettuano lievissime varianti non infrequenti fra stipiti di una stessa specie ed anche talvolta per uno stesso stipite, in condizioni diverse di cielo e di ambiente.

Ad una esatta identificazione provvidero in seguito le prove, delle quali già tenemmo parola, e specialmente la riproduzione sperimentale, le prove biochimiche e sierologiche.

Per questi fatti mi credo quindi autorizzato a raccogliere in un unico gruppo i cinque campioni isolati, conglobandone la descrizione nel modo che segue:

a) Colonia — In agar; di tipo caratteristicamente aperto; necessita di una descrizione particolareggiata, la quale sarà fatta in fine del capitolo.

b) Germe anaerobio stretto, mobile, sporigeno, non putrefacente.

1.° *Forme e dimensioni.* — In agar di 24 ore; spiccatissima tendenza al filamento (fig. 1, pag. 491); i germi isolati sono diritti, con estremità tondeggianti; nei germi, accoppiati a due o in brevi catenelle, le estremità, pressochè in contatto, solo lievemente smussate e talvolta rotondeggianti come nelle forme isolate. Le dimensioni variano fra μ . 0,7-0,9 di larghezza per μ . 3,4-8,6 di lunghezza.

Nel brodo al fegato non glucosato il germe presenta pure notevole tendenza al filamento (fig. 10, pag. 490); in pari tempo, numerose sono le forme granulose e pseudo-vacuolari; le dimensioni del germe sono alquanto superiori a quelle dell'agar.

Nel brodo glucosato, spiccata la tendenza a sporulare. Nei tessuti, e specialmente nel liquido peritoneale, il germe nei preparati colorati colla fuxina appare circondato da un alone bene pronunziato. Incostante la presenza di

forme filamentose; la fig. 1 della pag. 490 si riferisce allo striscio di milza del cadavere di uno dei feriti 10' dopo la morte; le figure 6 e 7 (pag. 491) ritraggono il germe nel peritoneo del *pulcino* e della *cavia*.

2.° *Colorabilità*. — Il germe, sì in agar che in brodo, si colora abbastanza facilmente colla fuxina basica e collo Ziehl, meno bene col bleu di metile; nelle colture in brodo, specialmente frequente la presenza di zone protoplasmatiche incolorabili coi comuni mezzi; discretamente frequente la presenza di zone jodofile.

Colla fuxina fenica, e nei preparati dai liquidi patologici specialmente, è molto frequente la presenza di una capsula negativa, sotto forma di una zona incolora attorno al corpo bacillare intensamente colorato; come già fu ricordato, non fu mai messa in evidenza una capsula vera.

3.° *Sporificazione*. — È vivace nel brodo glucosato, prevalentemente col tipo paraterminale (fig. 11, pag. 490); la spora è voluminosa, leggermente rigonfia, ovoidale, con facilità tende a farsi libera; nell'agar la sporulazione è scarsissima. La formazione di spore si verifica anche nella bile di bue.

4.° *Mobilità, ciglia*. — I movimenti attivi sono poco vivaci ed incostanti. Nel liquido peritoneale per lo più si manifestano sotto forma di movimenti ondulatori e di lenta traslazione; la mobilità è scarsa e talvolta appena apprezzabile nei filamenti, anche corti, mentre è più vivace nei germi isolati.

Nel brodo al fegato non glucosato, i germi manifestano talvolta una semovenza vivacissima, più che di traslazione, però, di vorticosità; i germi a protoplasma uniforme, senza tendenze degenerative, sono più evidentemente mobili: poco, i germi vacuolizzati e sporificati.

Nella bile di bue la mobilità è molto scarsa, forse in relazione alla tendenza filamentosa; sporificazione stentata, col tipo paraterminale.

Le ciglia, lunghe, in numero da 8 a 12, sono peritriche.

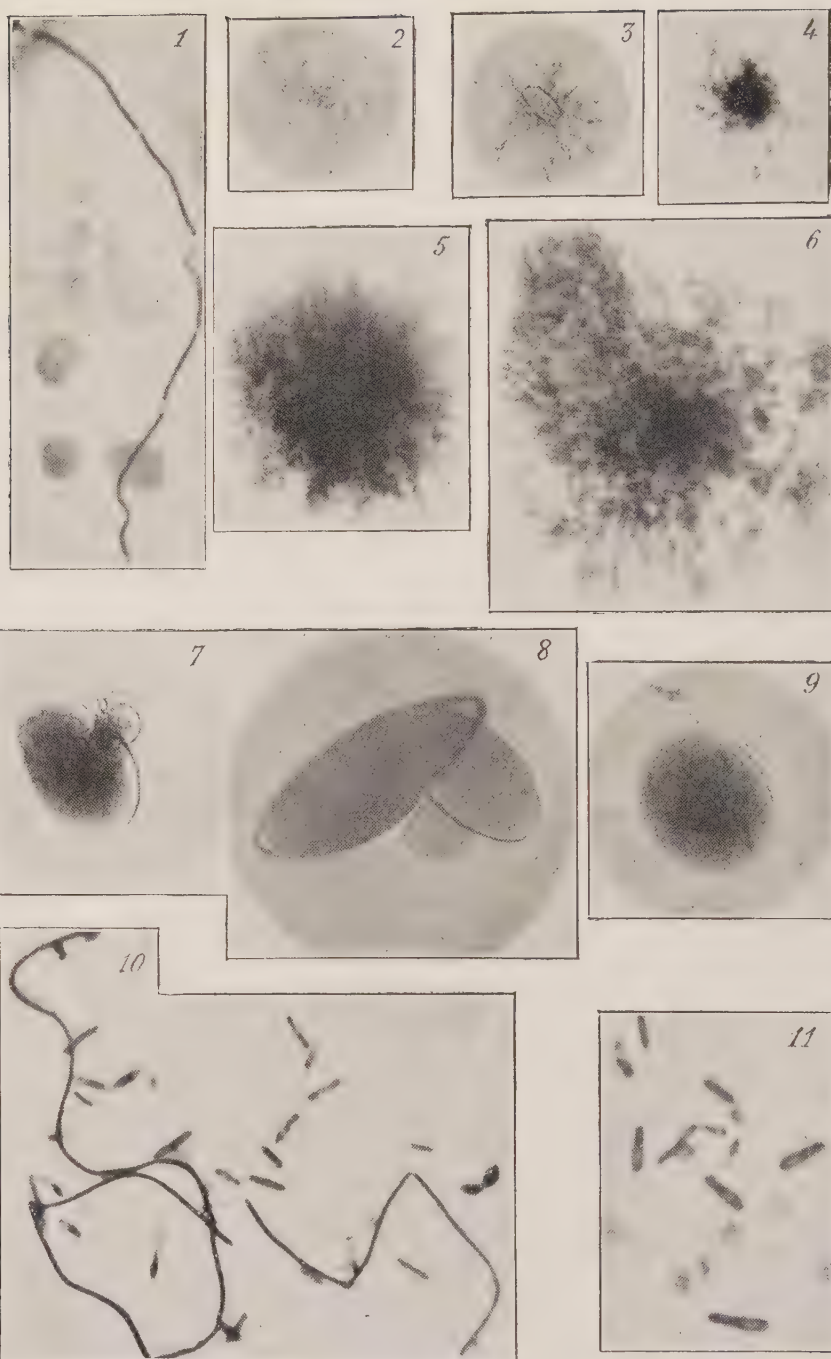
5.° *Resistenza*. — La resistenza del germe è difficile a valutarsi nei liquidi di coltura, anche molto freschi, in causa della sporificazione; può essere studiata sui liquidi patologici degli animali da esperimento e specialmente nel liquido peritoneale. Per ciò fare, si utilizza il liquido della cavità addominale di animali sacrificati nel periodo agonico; il liquido, diluito con soluzione fisiologica, viene riscaldato a 60°, 65°, 70°, 80°, per 10'-30'.

Con tale tecnica, si vede che, mentre la virulenza è mantenuta nelle prove di riscaldamento a 60° e perfino a 65', quantunque molto attenuata, essa scompare col riscaldamento a 70° per 15'. Il liquido, tenuto in termostato per 24 ore a 37° e poi inoculato, non produce alcun fenomeno nella *cavia*, eccezione fatta per un transitorio rialzo termico.

Il germe resiste indefinitamente all'essiccamento, tanto che il materiale virulento si attinge nel modo più comodo, volta per volta, da frammenti di muscolo dell'animale di esperimento, essiccati al termostato.

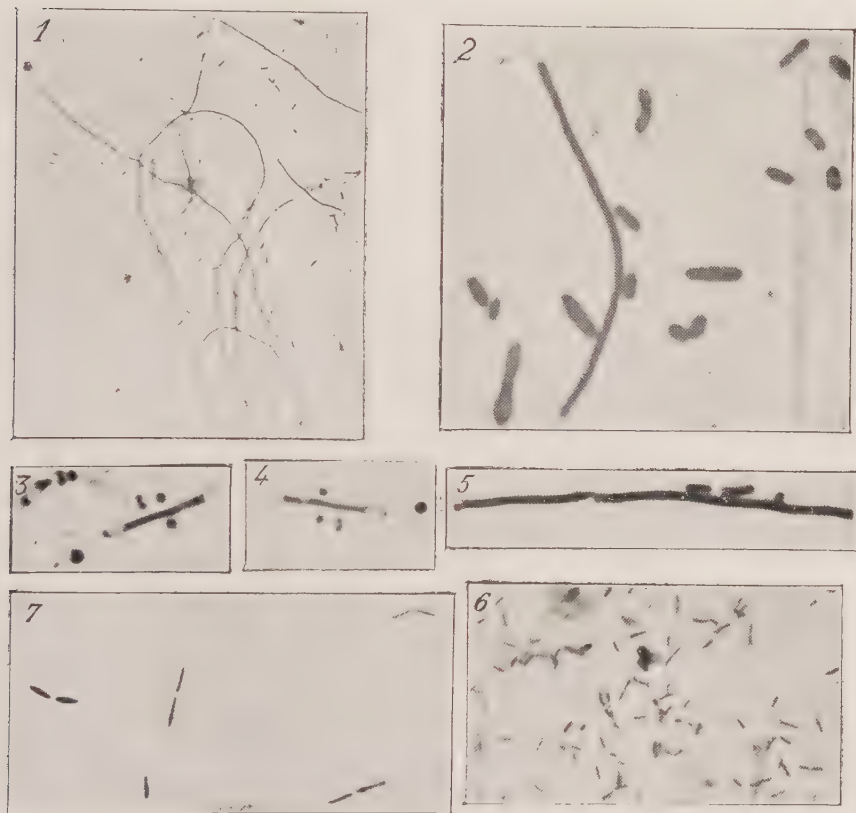
6.° *Caratteri culturali*. — Brodo al fegato non glucosato. — La rapidità dello sviluppo è in relazione colle fonti di insemamentamento.

Quando questo è eseguito col sangue del cuore, lo sviluppo è rigoglioso anche dopo 6 ore, con intorbidamento non notevole, molto gas, odore lievemente butirrico, acidità pronunciata. Nel passaggio dal brodo, lo sviluppo talvolta è tardivo (24-30 ore); analogamente, nel trapianto dall'agar.



Il liquido si chiarifica rapidamente, e totalmente, in modo che al termine di 72 ore si separa al fondo un alto deposito soffice, sopra il quale il brodo è perfettamente limpido e trasparente. Nel deposito, forte quantità di germi sporulati, qualche spora libera e filamenti.

Brodo al fegato glucosato. — Sviluppo più rapido e rigoglioso, con più forte quantità di gas e di acidi, più rapida ed abbondante la formazione di spore, specialmente paraterminali; scarsissimi i filamenti. Acidificazione intensa, odore lievemente butirrico.



Liquido ascitico. — Formazione di gas in quantità variabile, talvolta notevolissima, tal'altra mediocre; intorbidamento quasi sempre notevole. Lieve acidificazione. Odore, scarso, di acido.

Sangue umano. — Coagulazione senza sierare; laccatura diversamente rapida, ma sempre pronunciata; formazione abbondante di spore libere.

Emulsione acquosa di bianco d'uovo con fegato. — Coagulazione dell'albume, aereazione, nessuna digestione. Acidificazione; discreta quantità di gas. Nessun odore.

Emulsione di cervello. — Scarso gas, lievissimo ed incostante colorito roseo al fondo, che, manifestò al 4° giorno, è accentuato al 7°. Nessun annerimento. Acidificazione.

Latte. — Coagulazione ora rapida, entro le 24 ore, ora lenta; il coagulo qualche volta è retratto e bucherellato a spugna, con retrazione progressiva, e separazione di liquido perfettamente limpido; talvolta la coagulazione è a grumi; la caseina non è intaccata. Gas in discreta quantità, acidificazione più o meno notevole. Odore butirrico. Il germe ha tendenza al filamento.

Latte al tornasole. — Lentamente arrossato; l'arrossamento è persistente.

Bile di bue. — Sviluppo piuttosto stentato, con forme filamentose, sottili; poco accentuata la sporificazione.

Liquido di Zacherl. — Arrossamento più o meno marcato nelle 18-24 ore.

Emulsione di muscolo umano. — Sviluppo rigoglioso, con sporulazione abbondante, spore libere.

Emulsione di muscolo bovino. — Caratteri analoghi ai precedenti.

Siero di bue coagulato. — Abitualmente non viene modificato in modo apprezzabile. Il germe vi cresce abbastanza facilmente, senza tendenza al filamento; sporificazione di grado discreto.

Gelatina al 20% non glucosata. — La fluidificazione non è uniforme, anche per parte di uno stesso campione; in linea generale però la gelatina viene peptonizzata.

Gelatina al 16 e 20% glucosata. — Fluidificazione rapida e costante.

7.° *Proprietà saccarificanti.* — Il germe è attivo fermentatore del glucosio, con produzione di gas e di acido lattico. La fermentazione del saccarosio e del maltosio è meno pronta ed evidente, scarsa quella del lattosio; due stipi fermentarono anche il levulosio e l'arabinosio.

8.° *Proprietà patogene e conservazione della virulenza.* — La cavia ed il topo di fogna sono tra gli animali più sensibili il coniglio ed il riccio sono pure ricettivi, il pulcino è pure sensibile; il cane si dimostra resistente (inoculazione sottocutanea). Già vedemmo come l'iniezione endoperitoneale di 2 cc. di sangue del circolo generale del ferito riuscisse mortale per la cavia in uno spazio di tempo costantemente inferiore alle 24 ore; vedremo in seguito nella parte della riproduzione sperimentale, come la virulenza del germe si comportasse nei passaggi attraverso l'animale. Essa mai venne meno, sia che si adoperassero colture in brodo oppure colonie in agar stemperate in soluzione fisiologica; in quest'ultimo caso la sopravvivenza dell'animale fu alquanto più lunga (36 ore invece di 10-20).

Le colture in sangue umano si dimostrarono particolarmente virulente: tale speciale virulenza è conservata per qualche trapianto successivo in brodo al fegato, dove lo sviluppo rapido, con forte gas e notevole acidificazione, è caratterizzato dalla scarsa tendenza al filamento.

Il grado di virulenza delle colture in bile, in latte e negli zuccheri non è costante.

Le proprietà patogene sono dimostrabili colla iniezione sotto cute, endomuscolare, intraperitoneale ed endovenosa. In un unico esperimento da me praticato di inoculazione endo-intestinale (cavia 10', di gr. 550) mediante

1 cc. di brodo-coltura molto attiva, l'animale si dimostrò meno vivace nelle prime 48 ore, con pelo leggermente irto; poi tutto rientrò nella norma.

La conservazione del potere patogeno è pressochè infinita. Con pezzetti di muscolo delle pareti addominali di cavia o di topo, essiccati a 37° e conservati in tubi, io ho riprodotto il quadro tipico dopo 30 e più mesi, sia che l'esperimento venisse condotto con una coltura in brodo, apprestata dal muscolo secco, sia che allo scopo servisse un pezzetto di muscolo, direttamente portato sotto la cute dell'animale.

La conservazione del germe quindi, oltre che nel terreno liquido, si fa nel miglior modo prelevando ed essicando in termostato sottili listerelle di tessuto muscolare. Egualmente bene servono fegato, milza, rene, polmone e sangue.

La stessa modalità di conservazione fu da me adottata in qualche caso pel materiale umano attinto *in vivo* (sangue) o alla autopsia.

9.° *Prodotti*. — Dei cinque campioni, il N. 5 fu da me specialmente utilizzato per lo studio dei prodotti. La ricerca e la preparazione di una eventuale tossina solubile fu condotta col metodo di BESSON, col brodo MARTIN glucosato, addizionato con siero di cavallo, secondo JOUAN, col brodo MARTIN semplice e col brodo al fegato glucosato, talora con aggiunta dell' 1% di sangue umano defibrinato.

Col metodo BESSON si ottiene un prodotto che, filtrato alla BERKEFELD, risulta tossico irregolarmente per la cavia e pel coniglio, colla iniezione in vena: la morte dell'animale avviene con rapidità diversa e talvolta anche a lunga scadenza, a seconda della preparazione. Per iniezione sotto-cutanea, provoca nella cavia, alla dose di circa 1 cc. per 100 gr. di peso, diarrea profusa, formazione di stravasamento emorragico sottocutaneo ed intra-dermico nelle vicinanze del sito inoculato ed anche a qualche distanza (cute dello scroto nella inoculazione al quadrante inferiore dell'addome) ed infine una escara umida. Il peso dell'animale in breve tempo (3 giorni nell'oss. 7^a) si abbassa notevolmente (da 880 a 710 gr.). Alcuni animali si rimettono, altri muoiono in profondo dimagrimento, a lunga scadenza (100 - 130 giorni), nel quale intervallo la vasta piaga evolve a lenta guarigione.

Col brodo MARTIN e col brodo al fegato, addizionato con sangue umano, si ottiene una tossina molto più attiva, capace di uccidere l'animale in pochi minuti, se inoculata in vena, e di provocare fatti necrotici ed anche la morte in breve tempo, se inoculata sotto cute. Col riscaldamento a 60° per 30' le proprietà tossiche si attenuano considerevolmente, tanto che un coniglio di gr. 470, inoculato in vena con 1 cc. di tossina riscaldata, sopravvisse 11 giorni.

Il brodo-coltura, preferibilmente brodo al fegato + sangue umano, dopo 48 ore di termostato, viene filtrato alla BERKEFELD o centrifugato per 2 ore. Con quest'ultimo metodo la sterilizzazione del liquido non è mai assoluta; la quantità dei germi del liquido pipettato però è tanto scarsa, da non essere mai o quasi mai rilevabile coll'esame in goccia pendente o nello striscio, ma soltanto svelata dall'esame colturale; in qualche caso inoltre, questo risultò sterile.

La filtrazione alla BERKEFELD dà quasi sempre garanzie di asetticità assoluta; qualche volta però la prova colturale riuscì positiva, tanto da consigliare una seconda filtrazione. Così facendo però l'attività della tossina resta

notevolmente affievolita. In vista di tale eventualità, io procedetti ad una unica filtrazione, sul centrifugato (30') di colture di 48 ore.

Fra le proprietà di una buona tossina, così ottenuta, è da menzionare l'azione emotossica e la emoagglutinante; quest'ultima fu studiata pei globuli rossi dell'uomo, della cavia e del coniglio, con risultati quasi sempre uniformi.

10.^o *Reazioni immunitarie.* — 1) *Antitossina.* — Utilizzando grossi conigli, mediante l'inoculazione sottocutanea di dosi progressive di tossina è possibile preparare un siero antitossico di efficacia neutralizzante abbastanza notevole; la preparazione però non è agevole, occorrendo un lungo periodo di tempo (da 3 a 5 mesi), nel quale intervallo parecchi degli animali possono mancare per cause indipendenti dal trattamento.

2) *Agglutinina.* — Un siero agglutinante all'1 \times 300 - 1 \times 500 fu ottenuto dal coniglio, sottoposto ad iniezioni sottocutanee settimanali di sedimento batterico lavato di colture in brodo attenuate col calore; questo siero, preparato col campione 4.^o e 5.^o, si dimostrò fornito di potere agglutinante anche per gli altri tre stipiti, a diluizioni alquanto più basse (1 \times 400 - 1 \times 100). Furono fatti tentativi anche mediante iniezioni sottocutanee di coltura totale, ma i due conigli adoperati a tale scopo vennero a morte durante il trattamento. Attualmente sono in corso esperienze sul cane, con coltura totale.

Ad evitare errore di interpretazione, occorre tenere presente la eventualità della auto-agglutinazione; se non si ha quindi la sicurezza di essere dinanzi a sospensioni omogenee, è necessario provvedere a termini di confronto, esaminando, in identiche condizioni di ambiente, da un lato la sospensione batterica + siero, dall'altro la prima soltanto.

Riproduzione sperimentale.

Le esperienze di accertamento (dal sangue del ferito), condotte inoculando gli animali, e specialmente la cavia ed il topo di fogna, avevano dimostrato, come già sopra fu detto, che i cinque campioni isolati nei cinque casi dovevano l'un l'altro identificarsi per il complesso di caratteri che noi abbiamo passato in rivista e sui quali non è necessario ritornare. La riproduzione del quadro clinico ed anatomico parvemi quindi convenientemente affidata all'impiego di uno dei campioni già menzionati, il N. 5, il quale mi apparve come la più efficace espressione del germe in discorso; ogni tanto il quadro anatomico venne raffrontato ed integrato con quello prodotto dai quattro campioni restanti.

Cavia (5.^a, 6.^a, 8.^a, 11.^a, 17.^a, 19.^a, 20.^a, 21.^a, 22.^a, 25.^a, 26.^a).

Sito dell'iniezione. — Quadrante inferiore sinistro dell'addome.

Materiale iniettato. Brodo di fegato glucosato

Età della coltura 26 - 120 ore

Dose della coltura. da $\frac{1}{8}$ a $\frac{1}{4}$ di cc. per 100 gr. di peso

Sopravvivenza: da 30 a 7 ore.

a) Via sottocutanea.

Sintomatologia clinica. — È costantemente uniforme. L'animale talvolta già dopo 1-2 ore (a seconda della rapidità dell'evoluzione) si mostra irrequieto: salta sulle quattro zampe, ha contrazioni tonico-cloniche agli arti posteriori ed emette dei gridi; inoltre mostra una voracità insolita e talvolta morde anche il ferro della gabbia.

Durante questo periodo la temperatura rettale presenta un rialzo di solito non superiore ad 1 grado; nei casi ad andamento rapido, però, come ad es. quelli mortali in 7-10 ore, non si verifica alcun innalzamento termico, oppure questo è transitorio e limitato alla 1^a-2^a ora: in tali casi è invece più frequente la tendenza iniziale alla ipotermia.

Ai fatti su notati si accompagna, ben presto, pelo caratteristicamente irto, specialmente della testa, ed una particolare rilassatezza della muscolatura del tronco, tanto che quando si afferra l'animale si ha quasi l'impressione di avere tra le dita un corpo inanimato.

A livello della parte inoculata, che nei nostri casi fu costantemente la parte bassa del quadrante inferiore sinistro dell'addome, poco o nulla affatto si nota nelle prime ore, se si eccettua una zona di arrossamento vinoso ed una leggerissima succulenza della cute: coll'evolversi del processo però compare una tumefazione, di grado non notevole, che interessa la radice dell'arto ed il fianco; a questo periodo, e talvolta già prima che la tumefazione sia delineata, la zampa dell'arto posteriore corrispondente è meno calda o addirittura sensibilmente raffreddata.

Gradualmente intanto il colore della parte tumefatta si fa più carico e nei punti corrispondenti alla zona più scura, che di solito è quella segnata dal tragitto dell'ago, si forma una vescicoletta che presto si rompe. In mancanza di questa vescicola, si può assistere alla graduale disepitelizzazione della cute ed al trasudamento di liquido, debolmente colorato in rosso.

Avanzandosi ancora il processo, dalla zona tumefatta, sia attraverso l'apertura della vescicola, che attraverso alla disepitelizzazione cutanea, si ha scolo di liquido decisamente sanguinolento, pressochè limpido; il pelo, tanto nelle vicinanze come a distanza dalla zona tumefatta, si lascia distaccare colla mas-

sima facilità; l'edema delle parti molli si fa più pronunciato e può deformare molto notevolmente i genitali esterni.

Le condizioni generali intanto sono andate progressivamente aggravandosi; agli scatti ed ai salti è subentrata la paresi del treno posteriore; tanto che l'animale rimane quasi sempre accovacciato sul bacino, col capo tra gli arti anteriori; i gridi, più fiochi e frequenti, si accentuano quando l'animale viene afferrato, permangono le scosse del capo; il corpo, afflosciato, dà una impressione di freddo; dall'animale emana un odore nauseante, forte, irritante.

Tale stato può protrarsi relativamente a lungo, tanto da potersi osservare un periodo ipotermico della durata 12-14 ore, nei casi nei quali la sopravvivenza è piuttosto lunga (24-30); l'animale resta così come corpo inerte, e solo la respirazione superficiale e frequentissima, a tipo addominale, tradisce il resto di vita; qualche volta, negli ultimi momenti della agonia si può osservare spuma rossiccia alla bocca.

La morte sopraggiunge per lo più calma e sorprende l'animale nell'atteggiamento da questo mantenuto nelle ultime ore di vita.

Il quadro clinico tracciato corrisponde alla generalità dei casi ed è caratteristico per la manifestazione e successione cronologica dei sintomi. Qualche volta mancano o sono molto meno evidenti i fatti locali (oss. 20^a e 21^a) e sono questi i casi nei quali la diffusione del germe in circolo è più rapida (emocoltura dal cuore dopo 6 ore).

Autopsia. (1) — Cute dell'addome e della regione toracica anteriore di colorito rosso-vinoso, con tonalità progressivamente degradante nelle zone più lontane dal focolaio di inoculazione; in estesi tratti di cute l'epidermide sfogliata, lascia vedere il derma sottostante color mattone, e qua e là trasuda qualche goccia di liquido sanguinolento, specialmente nei punti ove la depilazione ha prodotto qualche lieve soluzione di continuo.

La cute al taglio è succulenta, per imbibizione siero-emorragica e facilmente lacerabile; nel focolaio di iniezione essa è il più di sovente scolata dal piano aponevrotico per l'intermezzo di una raccolta sanguinolenta di varia entità, specialmente accentuata nella regione inguino-addominale corrispondente al lato inoculato, ma bene evidente anche in quella del lato opposto. Nei recessi laterali, poche bollicine di gas.

(1) Immediata dopo morte o eseguita nel periodo agónico finale.

Il tessuto adiposo della regione inguinale è aereato e parzialmente intacato; alle ascelle, i gavoccioli di grasso sono bene conservati.

Muscoli dell'addome compatti, rosso-scuri, con emorragie interfascicolari, numerose nelle vicinanze del focolaio; a distanza da questo, il colorito volge al roseo ed i fatti emorragici molto meno pronunciati; bollicine di gas infiltrano irregolarmente il tessuto muscolare, specialmente nella regione soprapubica ed in quella ileo-costale.

Addome. — Nel peritoneo, variabile quantità di liquido roseo limpido, di tonalità variabile, facilmente coagulabile; sierosa parietale rosso scura; viscerale, accentuatamente rosea sullo stomaco ed intestino tenue: meno, a livello del crasso.

Fegato. — Slavato nella superficie inferiore, a chiazze talvolta emorragiche nella superiore; milza nera e molle; reni intensamente congesti, tanto in superficie che al taglio; midollare edematosa, scura; corticale tumida, con punteggiature rosse, sopraelevate; capsule surrenali, ora di colorito normale ora fortemente arrossate, pancreas, a zone rosso-scuri.

Stomaco. — Quasi sempre ripieno di cibo, disteso, scuro.

Intestino tenue, e specialmente il *digiuno*, pure fortemente distesi.

Nello stomaco talvolta, più raramente nell'intestino, presenza di liquido caffeeico di carattere ematico; in un caso, alcuni rami della vena mesenterica occupati da coaguli aereati.

Nello spessore della parete gastrica, come di quella dell'intestino tenue, e più presisamente nel tessuto sotto-sieroso, numerose e finissime bollicine di gas, delle quali, alcune di maggiori proporzioni si trovano anche nel cellulare retroperitoneale, specialmente del bacino.

L'apparecchio ghiandolare linfatico retroperitoneale raramente partecipa in modo visibile al processo; se la sopravvivenza dell'animale è alquanto più lunga della media, si possono trovare ghiandole ingrossate e fortemente iperemiche.

Torace. — Nelle pleure, rara presenza di liquido, più frequente invece nel pericardio; liquido sieroso, lievissimamente colorato. Nei casi, nei quali era stata eseguita la aspirazione dal cuore vivente, lo scarsissimo liquido pericardico è alquanto più roseo e può contenere anche qualche coagulo fibrinoso: di tale evenienza naturalmente fu tenuto calcolo caso per caso.

Miocardio talvolta spiccatamente flaccido. Polmoni ora di colorito e consistenza normali, ora, ed il più spesso, ad aree considerevolmente congeste, e talvolta epatizzate.

Asse cerebro spinale. — Vene meningee quasi sempre turgide. Nel cavo della meninge, lieve quantità di liquido, talvolta francamente ematico. Sostanza cerebrale spiccatamente edematosa; nei ventricoli laterali e nell'acquedotto di Silvio quasi sempre notevole quantità di liquido. Al taglio, iperemia della corteccia e dei grossi nuclei della base. Nel ponte e nel midollo allungato fatti ancor più pronunciati di iperemia, in qualche caso estesi fino al rigonfiamento lombare.

Arti posteriori. — Alla radice della coscia, corrispondente al lato iniettato, se l'inoculazione interessa la parti basse dell'addome, si osservano fatti talvolta notevoli a carico dei tessuti delle regione inguino-crurale; questi fatti consistono nella presenza di saccocce ematiche fra i piani muscolo-apone-

nevrotici, in rigonfiamento edematoso della aponevrosi e dei muscoli, ed in trombosi delle vene di piccolo e medio calibro.

Le cute della radice della coscia e dell'arto non si manifesta profondamente modificata; i muscoli ora sono più rossi, ora di colorito normale; nella profondità, a ridosso del piano osseo, non infrequente la presenza di liquido emorragico. Il periostio raramente è arrossato.

Nelle sezioni periferiche dell'arto questi fatti sono meno pronunciati e soltanto in via eccezionale si presentano col carattere dell'edema massivo.

Bacterioscopia.

Cellulare sottocutaneo. — Elementi isolati o a due, in quest'ultimo caso raramente disposti a squadra, eccezionalmente a canna di fucile; qualche volta in brevi catenelle, mai in filamenti; una sola volta (cavia 20^a) con rarissime spore, immature.

Cavo peritoneale e visceri. — Sopra 9 osservazioni, in tre sole, filamenti o nel liquido peritoneale (osserv. 17^a), o sulla superficie del fegato (osserv. 8^a), nella cistifellea, nell'interno del parenchima renale (osserv. 9^a); nelle osservazioni di tal genere la sopravvivenza degli animali era stata rispettivamente di 10, 30 e 27 ore.

Nelle sei restanti (16, 18, 9, 10, 17 e 7 ore di sopravvivenza) non furono trovati filamenti, ma soltanto qualche forma filamentosa (osserv. 6^a, 16 ore e 11^a, 18 ore). Nell'osserv. 17^a, a 24 ore di distanza dalla morte, nel liquido sottocutaneo e sulla superficie del fegato si rilevò la presenza di forme filamentose e di veri filamenti, prima non esistenti.

Nella maggioranza dei casi quindi il germe, all'atto della morte e nei casi di sopravvivenza di breve o mediocre durata, si presenta isolato o a due tanto nel sottocutaneo che alla superficie e nell'interno dei parenchimi e nei secreti (fegato, rene, milza, pancreas, utero, bile); la sporulazione in vivo è eccezionale e solo nel sottocutaneo; nei visceri, dopo morte è invece ben manifesta e talvolta caratteristiche (spora a manubrio, fig. 3 e 4, pag. 491).

Cavo toracico. — Il germe si trova isolato a due o in brevi catene di 2-3 individui nel polmone; nel cavo pleurico, il reperto non è costante; nel pericardio, nel muscolo cardiaco e nel sangue coagulato, sì delle orecchiette che dei ventricoli, il germe è piuttosto raro e quasi sempre in elementi isolati.

Asse cerebro-spinale. — Reperto positivo nel liquido meningeo e ventricolare; meno costante la dimostrazione nei preparati a striscio della sostanza cerebrale e dell'asse spinale.

Tessuti diversi. — Nel sangue: germi isolati o a due; nelle ghiandole linfatiche, reperto non costante; nel midollo osseo la dimostrazione riesce quasi sempre positiva.

Passaggio dalla madre al feto. — Nei tessuti fetali reperto in tutto identico e costante.

Coltura. — Costantemente positiva nel sangue, visceri, tessuti e secrezioni (bile, urine); dal sangue e soprattutto dal fegato si ha talvolta sviluppo rigogliosissimo in 4-5 ore, con forte quantità di gas ed aereazione del frammento.

b) Via endomuscolare.

Il reperto è presso a poco identico a quello sopra descritto; il tessuto muscolare, in seno al quale viene iniettato il liquido, diventa sede di un processo di rammollimento con formazione di una sacca ripiena di liquido ematico; attorno a questo focolaio, l'imbibizione siero-emorragica ha i caratteri già menzionati, e può, come nel caso della iniezione sottocutanea, presentarsi gelatinosa, rosea.

c) Via endovenosa.

Una cavia, iniettata in giugulare con 1 cc. di cultura totale, venne a morte in pochi minuti.

Il reperto descritto nella cavia è costante e caratteristico per quanto riguarda il tipo della lesione; meno uniforme riesce il reperto batteriologico, ma la ragione della dissonanza, specialmente nei riguardi della presenza o meno dei filamenti, è forse logico attribuire all'influenza che può esercitare la durata della sopravvivenza dell'animale.

Tuttavia, anche nel reperto anatomo-patologico macroscopico è possibile notare qualche differenza; così ad esempio nell'osserv. 2^a (*morte in 10 ore*) i fatti locali, insignificanti, erano solo testimoniati da lieve arrossamento e da edema dei muscoli nel focolaio di iniezione; nell'osserv. 21^a (*morte in 16 ore*) essi mancavano quasi del tutto; il reperto bacterioscopico dei visceri addominali riuscì pressochè inconcludente.

d) Iniezione endo-intestinale. (Cavia 10^a e 33^a).

L'inoculazione di 1 cc. di cultura fresca provocò disturbi transitori di breve durata (48 ore), dai quali l'animale si rimise completamente.

Topo di fogna.

In questo animale i sintomi clinici sono presso a poco quelli della cavia. I fatti locali sono meno pronunciati e su di essi prevalgono i fenomeni generali.

Nei visceri addominali, sia alla superficie che nello spessore, il germe si presenta rarissimamente in filamenti, per lo più è isolato o in brevi catene di due, tre individui. Nel sangue, il passaggio è più rapido che nella cavia; la sopravvivenza degli animali varia da 14 a 38 ore.

Coniglio.

Tre stipiti provocarono nel coniglio la morte presso a poco colle stesse modalità descritte per la cavia; i fatti locali però sono alquanto meno evidenti, soprattutto per quanto riguarda il colorito dei muscoli, meno costantemente rosso,

I due restanti stipiti si dimostrarono meno virulenti, anche per iniezione endovenosa.

Pulcino.

I fatti locali consistono specialmente nella formazione di edema e di qualche piccola vescicola; i muscoli della parete addominale sono rosso-seuri, quasi picei, in vicinanza del punto di inoculazione: di colorito pressochè normale, a distanza.

La morte avviene in 26-48 ore.

Nel cavo addominale: scarsa quantità di liquido siero-ematico con germi isolati o a due; nel peritoneo ed alla superficie del fegato non si vedono filamenti (fig. 6, pag. 491).

Nel sangue, sui preparati a striscio la ricerca del germe è negativa; l'emocoltura però è costantemente positiva.

Riassunto. — Identificazione.

Il germe di questo primo gruppo presenta i seguenti caratteri: *Anaerobio obbligato, mobile, sporigeno, saccarificante, debolmente proteolitico, non putrefacente.*

Nei visceri dell'uomo e dell'animale, scarsa tendenza al filamento; rara la sporulazione nei tessuti dell'animale vivente; abbastanza facile e talvolta caratteristica nei tessuti dopo morte. Nel brodo non glucosato, tendenza alla forma degenerativa ed al filamento.

Nel brodo glucosato, spiccata facilità a sporificare, con spora paraterminale.

Nell'agar, conformazione in filamento spiccatissima, con scarsa tendenza degenerativa.

L'azione altamente patogena per la cavia, topo, coniglio, pulcino, si manifesta, tanto nell'uomo come nell'animale da esperimento, con fatti di edema emorragico, prevalenti su quelli di infiltrazione gassosa.

Sì nell'uomo che nell'animale all'atto della morte manca l'aereazione dei visceri (organi schiumosi).

Il complesso di questi caratteri trae a restringere la cerchia, entro la quale può essere contenuta la discussione nei riguardi dell'entità batterica del germe descritto.

Non ripetiamo qui quanto già si disse per il b. *oedematis maligni* Gram-negativo ed a proposito del B. X di v. HIBLER:

neppure è il caso di stabilire un raffronto col *B. XI* di questo A., dotato di caratteri fundamentalmente analoghi al *B. X* (proteolitico attivo) e solo differenziantesene per la minore patogenicità e per la mancanza di forme a filamento sulla superficie dei visceri.

Io mi sono occupato del raffronto del germe, da me isolato, 1° col *vibrione settico*, 2° col campione del *carbonchio sintomatico* dell'Istituto d'Igiene della R. Università di Modena, 3° col *c. sintomatico* dell'Istituto sieroterapico Milanese.

Vibrione settico. — Le analogie riguardano specialmente la morfologia dei due germi nel brodo non glucosato e consistono nella tendenza alle forme degenerative (forme a *navicella*, ad *arcolaio*, a *limone*). Le differenze consistono nella facilità del nostro germe a sporulare nei mezzi glucosati, col tipo paraterminale più che centrale, e nella spiccatissima tendenza al filamento, soprattutto in agar.

Tale tendenza è invece poco pronunciata nei visceri dell'animale, contrariamente a quanto si osserva pel *v. settico*, nel quale la disposizione in lunghissimi filamenti sulla superficie dei visceri costituisce la caratteristica.

La forma della colonia in agar non offre differenze sostanziali; nel *v. settico* essa è, di massima, meno rigogliosa, più tenue, spesso a maglie, con centro poco compatto: talvolta però può presentarsi provvista di un centro denso, opaco, dal quale si irradiano sottili prolungamenti. Le forme a contorno netto, con ciuffo di filamenti o di elementi sferoidali, costituiscono le forme meno frequenti, atipiche, comuni nei due casi.

B. del carbonchio sintomatico. — Il campione dell'Istituto di Igiene (C. S. I.) offre parecchie analogie; tra queste, un rilevante grado di patogenicità pel coniglio, il quale spesso viene a morte col reperto bacterioscopico caratteristico (filamenti nel peritoneo (fig. 6, pag. 432).

La forma della colonia in agar inoltre presenta caratteri di affinità molto rilevanti. E qui credo opportuno richiamare l'attenzione sopra l'eventualità di un certo grado di pleomorfismo occasionale nella colonia dei germi anaerobi in genere.

Le figure 7, 8 e 9 della pag. 490 furono ricavate trapiantando, in agar, vecchio materiale di coltura in sangue umano dello stipite del 1° gruppo: come si vede, trattasi di colonia a tipo chiuso, ora con formazioni sferoidali a ciuffo, ora del tutto

nuda. Il fatto, che non mancò di sorprendermi, si ripeté nel corso di questo mio studio, sì pel germe del gruppo che per altri germi affini o differenti e con modalità svariate, quasi sempre però nel trapianto diretto in agar di colture liquide molto vecchie.

L'identità dei germi in tutti i casi fu stabilita passando in brodo le colonie atipiche, allestendo nuove piastre col brodo di 24-36 ore e provando di quest'ultimo il potere patogeno. E così le colture in brodo delle colonie 7, 8 e 9 riprodussero in agar le colonie sul tipo della 2^a, 3^a e 4^a ed iniettate nell'animale si dimostrarono fornite di altissimo potere patogeno, tanto da uccidere la cavia nel termine di 7 e 9 ore.

Orbene, le fig. 7, 8, e 9 richiamano sotto alcuni riguardi la morfologia di colonie in agar del *B.* del C. S. I come risulta dalle figure 3 e 4 della pag. 432.

Il C. S. II offre invece differenze abbastanza marcate sì nella morfologia delle colonie e del germe come nel modo di presentarsi nell'animale di esperimento (assenza costante di filamenti).

Per due stipiti del gruppo I^o, per il campione di *C. sintomatico* dell'Istituto d'Igiene, e per quello dell'Istituto sieroterapico di Milano, fu eseguita la prova della neutralizzazione, iniettando nella cavia dosi mortali di brodo-coltura di ciascun germe + siero anti - C. S. II. I risultati furono i seguenti:

L'antisiero C. S. II non modificò per nulla la virulenza della coltura del germe del 1^o gruppo e tutte le cavia iniettate con dose minima mortale vennero a morte nell'intervallo di tempo di 8-12 ore. Uguali risultati si verificarono nelle cavia inoculate con miscela: *coltura di carbunchio sintomatico dell'Istituto di Igiene* + siero anti - C. S. II.

Dobbiamo osservare però che dei due controlli (cavia inoculate con coltura di carbunchio sintomatico II + antisiero corrispondente) una venne a morte e l'altra sopravvisse attraverso fenomeni generali molto gravi (*ipotermia, astenia*).

II^o Gruppo.

N.^o 6 casi (febbraio 1916 - marzo 1917).

Sede della ferita. — Arto inferiore con lesione dello scheletro.

Quadro anatomico predominante. — *Infiltrazione gassosa dei tessuti, talvolta di estensione considerabilissima, fino*

ad invadere tutto un lato del corpo (caso Bel.); erisipela bronzina, vescicole, muscoli rosso-cupi o nerastri, simili a coagulo di sangue secco, crepitanti, non aumentati di volume; edema profondo intensamente emorragico - Scarsa tendenza allo sfacelo dei tessuti.

Sopravvivenza - da 72 a 86 ore.

Operazioni demolitrici. Una amputazione precoce, della coscia al 3° medio, in un caso di ferita con frattura della tibia destra.

Prelevamento del sangue per emocoltura e per la prova biologica: dalla 30^a alla 42^a ora, dopo la ferita.

L'iniezione nelle cavie riuscì mortale fra l'11^a e la 22^a ora.

Seguendo la tecnica già descritta pel gruppo 1°, in tutti i sei casi fu isolato un unico tipo di germe, il quale, diciamo subito, si avvicina per parecchi caratteri al v. *setticus*.

Nelle figure delle pagine 504 e 506 è riassunta la storia batteriologica del germe: io mi limiterò a ricordare i fatti più salienti osservati:

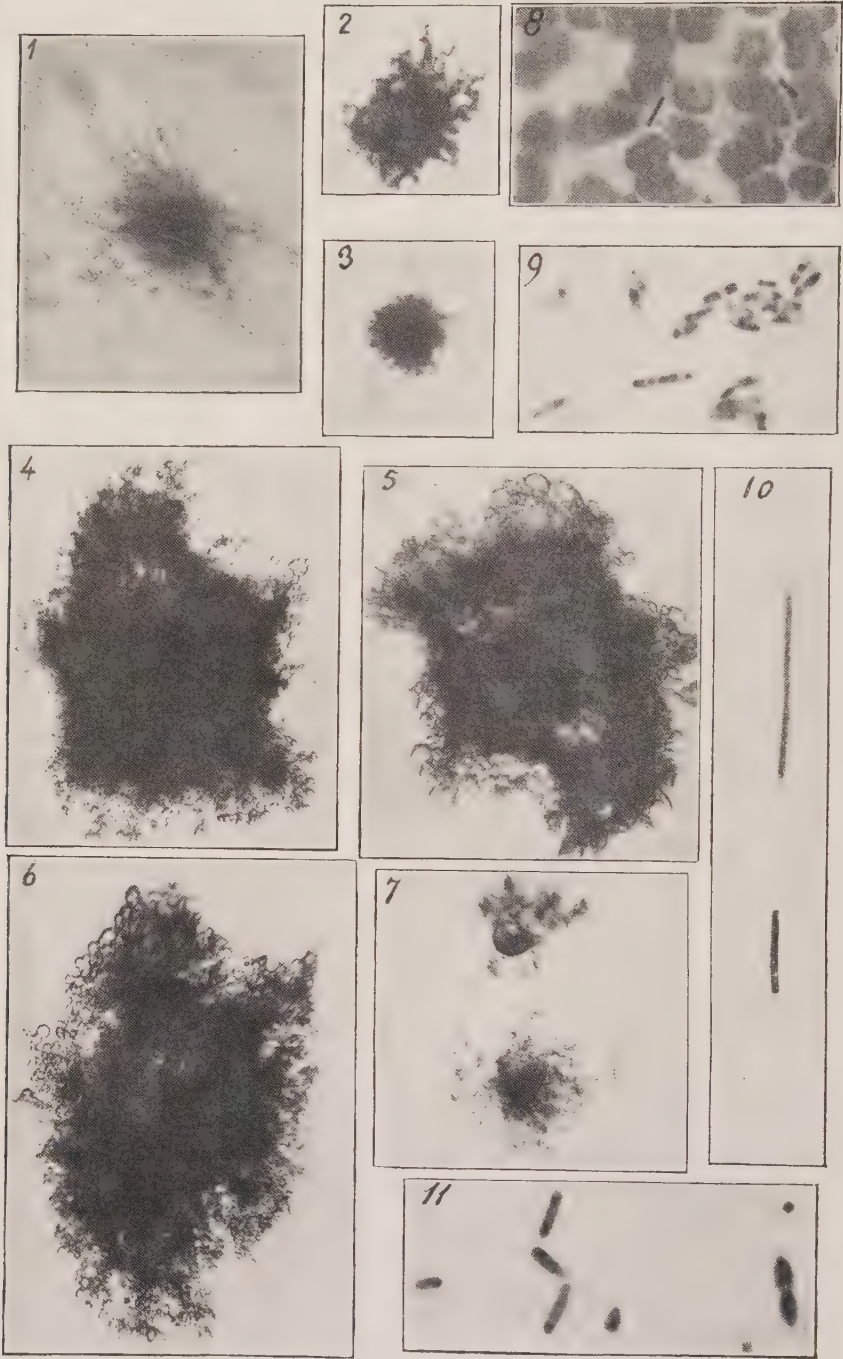
a) Colonia. — In agar; è a tipo aperto; si può osservare anche la forma chiusa (fig. 9 e 11, pag. 506) nella quale il centro, più carico, è costituito da formazioni sferoidali od ellittiche, mentre i margini, netti e trasparenti, appaiono lievissimamente granulosi; anche qui talvolta un ciuffo di filamenti sottili, con rigonfiamenti sferoidali, si stacca dal centro.

L'inizio della colonia si ha talvolta sotto forma di un cerchietto o di un elissi, dalla quale si dipartono esilissimi filamenti. Colla lente di ingrandimento la colonietta offre l'aspetto di una piccola massa bianca, a contorni irregolari, evanescenti, provvista di un centro alquanto più marcato; solo al microscopico è possibile apprezzare le caratteristiche strutturali; le figure 7, 8 e 10 della pag. 506 riproducono appunto i primi stadi di una colonia di questo tipo. Altre volte invece già fin dall'inizio, il centro è più compatto e solo col modificare il fuoco microscopico si riesce a scoprire la formazione centrale, a cerchio o ad elissi, in mezzo ad un intreccio fitto di esilissimi filamenti (fig. 5, pag. 506).

Tal'altra volta infine il centro è opaco, compatto e da esso si dipartono le caratteristiche diramazioni: è questo l'aspetto più comune della colonia, rigogliosa già fin dal suo nascere (fig. 1, pag. 504 e fig. 1, 2, 3, 4, pag. 506).

Una conformazione caratteristica è quella ritratta nelle fig. 4, 5 e 6 della pag. 504 e nella fig. 6 della pag. 506; è la tendenza alla formazione di una infinità di elementi sferoidali attorno ad un grosso centro opaco. Il fatto si verifica specialmente nelle colonie superficiali, cresciute fra agar e vetro: l'aspetto della colonia riesce elegantissimo; la fig. 5^a della pag. 504 è uno stadio avanzato della fig. 4.

Una nuova piastra in agar, allestita con brodo ove è stata trapiantata la



colonia 5^a (pag. 504), unitamente al tipo di colonia comune, uno ne riproduce, nel quale la tendenza alle formazioni sferoidali è ben pronunciata (fig. 7, pag. 504).

Le colture allestite con queste varietà di colonie uccidono la cavia colle identiche modalità.

b) *Germe.* — 1.^o *Forma e dimensioni.* — Per tutti i sei stipi isolati e come risulta dalle figure 9, 10 ed 11 della pag. 504 e dalla fig. 3 (in basso della pag. 506 (germi in agar), questi caratteri sono molto vicini a quelli del v. settico, del campione originale dell'Istituto Pasteur; (forme a lancia, a botte ad arco); lo stesso dicasi per la colorabilità, sporificazione, mobilità, presenza delle ciglia ecc. Salvo lievissime varianti, i sette stipiti presentarono identità sostanziale fra loro.

2.^o *Resistenza.* — Il germe muore a 65° dopo 15' - 20' minuti; la spora resiste impunemente a 95° - 100° per oltre mezz'ora.

Si in coltura liquida che nei tessuti essicati (muscolo di cavia o di topo) il germe conserva, pressochè indefinitamente, vitalità e virulenza.

3.^o *Caratteri culturali.* — A notarsi per alcuni campioni (B. C. Nis. Cer.) un leggero potere digestivo sul siero di bue coagulato, il quale però conserva reazione alcalina.

La caseina rimane costantemente coagulata, senza traccia di digestione. il coagulo è quasi sempre a spugna; il liquido di separazione, limpidissimo.

In pappa di cervello; formazione di deposito rosso, abbondante; sporificazione rapida, paraterminale e centrale; nella bile, sviluppo di molto gas ed acidificazione.

4.^o *Proprietà saccarificanti.* — In uno stipite la fermentazione risultò specialmente bene manifesta per il maltosio ed il lattosio; in linea generale, glucosio, maltosio, lattosio e saccarosio vengono scomposti; dei quattro, il saccarosio è quello che presenta reazioni meno regolari.

5.^o *Proprietà patogene.* — Spiccatissima tendenza del germe a passare in circolo. Nella figura 8^a della pag. 504 il germe era presente nel sangue della radice dalla coda del topo alla 4^a ora (campione B.); l'animale morì dopo 15 ore.

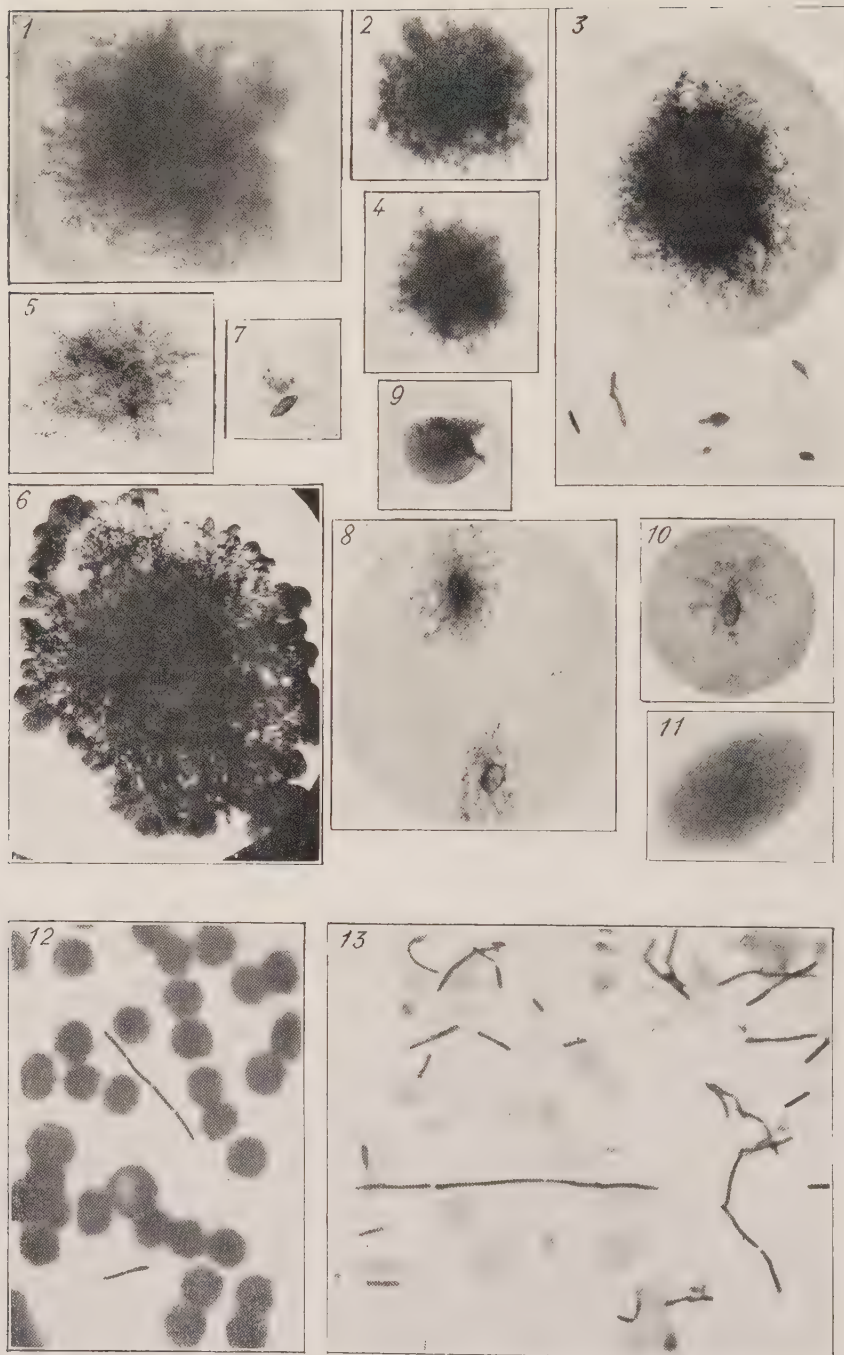
Autopsia. — I muscoli della parete addominale sono quasi costantemente rossi, con edema emorragico marcatissimo. In taluni casi però presentano zone di sfacelo e possono essere anche lividi (osserv. 6^a e 8^a).

Il gas, sotto forma di bollicine, è costantemente presente nel sottocutaneo, specialmente dei fianchi e delle ascelle; meno, nello spessore del tessuto: esso è talvolta molto abbondante.

Nel peritoneo ed alla superficie del fegato, lunghi e numerosi filamenti, spiccatamente mobili (fig. 13, pag. 506).

Il germe oltre che per la cavia e pel topo, risulta patogeno pel coniglio e per il pulcino: il cane dimostra scarsa sensibilità.

6.^o *Prodotti.* — Tanto nelle colture in fegato alcalinizzate secondo il metodo Besson, che nelle colture in brodo al fegato o in brodo MARTIN si rileva la presenza di una tossina emolizzante ed emoagglutinante (globuli rossi dell'uomo, della cavia e del coniglio). La filtrazione per candela Berkefeld dà risultati meno uniformi che non la centrifugazione; quest'ultima quindi merita di essere preferita nella iniezione endovenosa, quando trattisi di saggiare il potere tossico e di stabilire la dose mortale.



7.^o *Reazioni immunitarie.* — 1.^o *Agglutinina.* — Un siero agglutinante di discreta attività (1×400) si ottiene dal coniglio colla tecnica già accennata. Per la preparazione furono utilizzati due stipiti ed il siero ottenuto si dimostrò fornito di proprietà agglutinanti anche per qualcuno degli altri stipiti, ma in modo incostante ed in diluizioni differenti.

2.^o *Antitossina.* — Si può ottenere dal coniglio, sottoposto ad un trattamento simile a quello già accennato per il germe del 1.^o gruppo; il siero ha proprietà antitossiche ed antinfettive.

Riproduzione sperimentale.

1) Brodo-coltura.

Cavia (3^a, 4^a, 5^a, 6^a, I, V, VI, VII, VIII).

Materiale iniettato Brodo di fegato glucosato.

Età della coltura 48 ore — 180 giorni.

Dose $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ cc. per 100 gr. di peso.

Sopravvivenza Da 10 a 23 ore.

a) Iniezione sotto-cutanea ed endomuscolare.

Sintomatologia clinica. — Essa ricorda con molta analogia quella descritta pel *v. settico*; irrequietudine, che si manifesta con scosse della testa e degli arti posteriori già a breve distanza dall'inoculazione, qualche grido breve, e piccoli salti; la temperatura sale abitualmente di 1 grado o di 1 grado e $\frac{1}{2}$.

Il pelo ben presto si fa irto e l'animale, nei momenti di calma, appare quasi raggomitato su sè stesso, colla testa fra gli arti anteriori.

Il respiro, già nelle prime 3-4 ore, è più frequente e qualche volta irregolare.

Localmente, spesso, arrossamento della cute, con lieve pastosità; raro il crepitio.

Le condizioni generali gradualmente si aggravano, l'animale respira affannoso ed emette più frequenti lamenti; se preso, non oppone resistenza e quasi si affloscia nella palma della mano che lo sostiene: le contrazioni tonico-cloniche ed i salti sono sostituiti da uno stato astenico, in forza del quale l'animale non si regge sul treno posteriore (7^a-12^a ora, a seconda della sopravvivenza.) La temperatura manifesta tendenza a discendere e spesso già verso la 8^a-12^a ora trovasi sotto la norma.

Localmente il più delle volte notasi una tumefazione del volume di una piccola noce, rosso-vinosa, lievemente succulenta: da piccole aree disepitizzate geme liquido rosso-rubino, limpido. Il pelo della regione, circostante a questa zona, si stacca con molta facilità: il fatto si ripete con minore evidenza, nelle parti più lontane.

In qualche caso (osserv. 8.^a) mancò ogni traccia di reazione locale, eccezione fatta per un colore alquanto più oscuro attorno al punto di penetrazione dell'ago.

Nelle ore successive l'aggravamento precipita: l'ipotermia notevole (35-34.5) si accompagna a stato completo di insensibilità; l'animale sta coricato sul ventre o raggomitato su sè stesso, respira superficialmente ed

emette qualche rarissimo lamento: dalle nari e dalla bocca spesso cola liquido e materiale alimentare non deglutito. Dal corpo emana un odore sgradevole e dalla parte iniettata defluisce liquido sanguinolento, talvolta in notevole quantità. In qualche caso si può osservare paralisi totale dello sfintere anale e scolo di liquido mucillaginoso dall'uretra maschile.

Autopsia. — Addome quasi sempre teso e meteorico; genitali esterni, specialmente maschili, in qualche caso spiccatissimamente edematosi; cute della parete addominale rosso-scura, lucente, edema emorragico nel sottocutaneo e nello spazio pre-peritoneale. Numerose bolle di gas, specialmente sui fianchi ed alle ascelle: ghiandole linfatiche quasi sempre tumide: adipe dei cavi inguinali rosso-edematoso.

Muscoli. — Rosso-minio, ora asciutti, crepitanti, ora umidi ed edematosi, raramente rammolliti; nella compagine muscolare, aree emorragiche, con grumi e gas. — Tali fatti, evidenti specialmente sul sito circostante alla parte inoculata, vanno digradando verso il torace.

L'enfisema è spesso spiccatissimo tra il piano muscolare ed il tessuto preperitoneale della regione del fianco.

Addome. — Peritoneo rosso-scura, lucente, con liquido variamente sanguinolento: nel cellulare retroperitoneale talvolta cospicua quantità di gas (osserv. 3^a).

Le modificazioni nel colorito del fegato non sono uniformi; spesso il viscere è rosso-scura, altra volta invece à colore della carne lessa, specialmente nella faccia inferiore.

Milza. — Costantemente rossa o rosso-scura.

Reni. — Fortemente congesti ed edematosi.

Capsule surrenali. — Quasi sempre iperemiche.

Pancreas. — In una osservazione, turgido, iperemico, a chiazze scure, in corrispondenza specialmente della testa.

Stomaco. — Quasi sempre disteso da cibo, con gas sotto-sieroso-iperemico, a chiazze violacee.

Intestino tenue. — Fortemente arrossato, specialmente il digiuno; enfisema sotto-sieroso, talvolta a grosse bolle.

Torace. — In qualche caso scarsa quantità di liquido rosso nelle pleure: nel pericardio, il fatto si osserva con maggiore frequenza.

Polmoni. — Ora di colorito normale, ora a zone congeste.

Asse cerebro-spinale. — Cervello e bulbo quasi sempre spiccatamente congesti; in qualche caso, liquido lievemente roseo nel cavo meningeo.

Arti posteriori. — La coscia, corrispondente al lato iniettato, è quasi sempre aumentata in volume; negli interstizi muscolari, liquido lievemente ematico. Questi fatti sono specialmente pronunciati negli animali che sopravvivono più a lungo; è dato allora osservare fatti che richiamano quanto si osserva nei muscoli dell'addome: le piccole e medie vene della regione crurale e della faccia interna della radice della coscia si possono trovare trombizzate.

Riassumendo. — Il quadro anatomo-macroscopico presentasi uniforme nella quasi totalità dei casi e consiste nella presenza di edema emorragico, di enfisema di vario grado delle parti molli della parete addominale, in arrossamento dei muscoli; mancano, o non sono rilevanti, i fenomeni di miolisi.

Da questo quadro dissentono rare osservazioni; nella cavia 8^a infatti, dietro iniezione di media dose di coltura di 19 giorni, i fatti locali esterni furono i seguenti:

Cute di colorito presso a poco normale, muscoli lividi, grigiastri; scarso liquido ematico all'inguine, sede della iniezione; rarissime bollicine di gas nello spessore della parete addominale. A notarsi, una decolorazione marcata del fegato, delle capsule surrenali e dei reni. In questo caso, i visceri addominali, lasciati a temperatura ambiente, diventarono schiumosi dopo 14 ore.

Il restante reperto coincideva esattamente con quello sopra descritto.

Bacterioscopia. — Nel cellulare sottocutaneo, germi isolati, a due, rarissimamente in corti filamenti: assenza di spore.

Nel peritoneo; costanti, lunghi filamenti, mobilità accentuata, anche delle forme filamentose, (fig. 13, pag. 506).

Superficie del fegato. — Filamenti lunghissimi, presenti anche nella bile.

Nella milza e nei reni: elementi lunghi, talvolta in catena: rara, la presenza di filamenti molto accentuati.

Cavo toracico. — Nel polmone spesso lungi e sottilissimi filamenti: nel cavo pleurico e pericardico, ora forme filamentose, ora articoli isolati.

Asse cerebro-spinale ed altri organi e tessuti. Presenza del germe per lo più in articoli isolati o a due.

Il germe nella placenta e nei tessuti del feto presentasi talvolta in lunghi filamenti.

Nei preparati di sangue a striscio la ricerca è quasi sempre positiva: il germe presentasi spesso in lunghe catenelle (fig. 12, pag. 506).

L'emocoltura è costantemente positiva *in vivo* (prelevamento dal cuore) e *post-mortem*: il germe, nella grande maggioranza dei casi, trovasi in coltura pura.

2. Terreni colturali diversi.

Siero coagulato. — L'inoculazione sotto cute, ed intramuscolare è rimasta qualche volta senza effetto: a notarsi, lo sviluppo molto stentato del germe, sotto forma di bastoncino granuloso, sottile, isolato, raramente in corto filamento: la reazione talvolta è alcalina o debolissimamente acida.

Pappa di cervello. — L'iniezione sotto-cutanea al quadrante inferiore dell'addome, di $\frac{1}{2}$ cc. per 400 gr. di peso, uccide la cavia in 12 ore con fatti locali imponenti, già visibili dopo 3 ore. Essi consistono in formazione di una grossa bozza aerea, ricoperta da cute edematosa, rosso-vinosa.

All'autopsia: scolo, in fortissima quantità, di liquido ematico dalla regione inoculata: il pelo si stacca in larghi ciuffi tutt'attorno al focolaio ed a distanza: vene sottocutanee trombizzate: muscoli rammolliti, lucenti, imbibiti di forte quantità di liquido ematico, segnatamente attorno al focolaio: muscoli dell'arto posteriore corrispondente piuttosto asciutti e crepitanti.

Nel peritoneo liquido ematico; il fatto più saliente è però fornito dallo spiccato enfisema del cellulare retroperitoneale.

Fegato — Fortemente slavato. Reni iperemici, a chiazze gialle.

Asse cerebro-spinale spiccatamente congesto, edematoso, meno consistente del normale: il bulbo in special guisa presentasi iperemico.

Latte. — L'iniezione sottocutanea di coltura giovane (36-48) ore, alla dose di $\frac{1}{4}$ di cc. per 100 gr. di peso, fu sopportata dalla cavia: la coltura vecchia provoca la morte in circa 20 ore, alla dose suddetta.

Bile di bue. — L'inoculazione sottocutanea di $\frac{1}{2}$ cc. per 400 gr. di peso uccide la cavia in 8 ore (osserv. 10^a); in vita, nessun fatto locale saliente. All' autopsia, spiccato edema gelatinoso o roseo nella regione soprapubica e dei genitali esterni. Notevole, l'ipotermia precoce (35°, 5 80') dopo l'iniezione).

b) Iniezione endovenosa.

La morte è talvolta rapidissima, talvolta tardiva (6-8 ore). L'animale ha tremori, pelo irto, polipnea: tali fatti insorgono talvolta pochi minuti dopo l'iniezione e sono transitori; ad essi subentra abbattimento alternato a qualche manifestazione agitata: la morte avviene in ipotermia accentuatissima (32').

c) Inoculazione endo-peritoneale.

La coltura in brodo riesce mortale in 10-12 ore.

In una cavia inoculata in peritoneo con un frammento di agar, contenente una colonia di 2 giorni, la morte sopravvenne in 20 ore con reperto classico.

PASSAGGI IN SERIE. — (Cavie 4^{bis}, 5^{bis}, 6^{bis}).

Cavia 4^{bis}. — Sotto cute addome, un frammento milza cavia 3^a \div dopo 56 ore.

Cavia 5^{bis}. — Sotto cute addome, un frammento milza cavia 4^{bis} \div dopo 55 ore.

Cavia 6^{bis}. — In peritoneo, un frammento milza cavia 5^{bis} \div dopo 26 ore.

Topo di fogna.

Presenta una squisita sensibilità: l'iniezione sottocutanea, endomuscolare ed endovenosa provoca la morte con un quadro identico a quello presentato dalla cavia: notevole la rapidità del passaggio del germe nel sangue (fig. 8, pag. 504 — 4 ore dopo l'iniezione).

Due di questi animali (2° e 4°), inoculati sotto cute con materiale quasi totalmente sporificato, rispettivamente di 8 e 40 giorni, morirono in 8 e 20 ore, con reperto caratteristico. Nel topo 4°, iniettato con spore quasi pure, il liquido, nel quale era stato stemperato il materiale, venne addizionato con acido lattico nella proporzione del 2%. In questo animale si notò, come reperto caratteristico: presenza di lunghissimi filamenti specialmente nella milza: inoltre, in questo organo, numerose spore libere, verosimilmente pervenute dal focolaio di iniezione.

Nel topo 5° e 6°, inoculati sotto cute con spore di agar di 83 e 90 giorni, sospese in soluzione fisiologica contenente acido lattico nella proporzione suddetta, il reperto fu meno probativo. Gli animali morirono in 8^a e 9^a giornata: all'autopsia; sfacelo locale delle parti molli della regione iniettata. Nei visceri, la ricerca del germe riuscì negativa. Il materiale di coltura in brodo anaerobio non potè essere convenientemente utilizzato.

Coniglio.

Offre presso a poco il quadro della cavia: due degli stipiti manifestarono una minore virulenza.

Pulcino.

L'animale presenta minore ricettività dei precedenti: La sopravvivenza è talvolta di 5-6 giorni; in media, tuttavia, oscilla fra le 48 e le 56 ore.

A notarsi la tendenza alla formazione di voluminose vescicole nel punto della inoculazione sotto-cutanea.

Nel liquido, nerastro o rosso-carico, si rileva la presenza di bastoncini isolati o a due, vivacemente mobili.

Nei visceri parenchimali dell'addome il reperto del germe è molto scarso e talvolta negativo: la coltura però riesce positiva dalla miza, dal fegato e dal rene.

L'emocultura fallì in uno dei tre casi esaminati.

RIASSUNTO ED IDENTIFICAZIONE

I caratteri dei 6 campioni del germe osservato in questo 2° gruppo possono venire sintetizzati come segue:

Germe anaerobio obbligato, mobile, sporigeno, saccarificante, fondente la gelatina, di scarsa azione sul siero coagulato, a chemismo non putrido.

Nei visceri dell'uomo e dell'animale, spiccata e costante tendenza a presentarsi in lungo filamento.

Sporulazione facile nei terreni proteici, meno, nei glucosati e nel latte; assente o appena accennata nel siero di bue coagulato e nella bile di bue. Notevole la presenza di forme caratteristiche a clava, a barilotto, ad arcolato e di forme degenerative sì nell'agar che nel brodo (fig. 11 e 9 pag. 504); nel siero di bue talvolta forma filamenti.

L'azione patogena tanto nell'uomo come anche nell'animale ricettivo e specialmente nella cavia e nel topo di fogna si svolge con edema emorragico, roseo, eccezionalmente gelatinoso e con enfisema dei tessuti esterni e delle sierose, talvolta molto imponente. L'azione emolitica è discretamente pronunciata.

All'atto della morte l'aereazione dei visceri non esiste; si verifica invece in qualche caso dopo morte; il fegato specialmente diventa schiumoso e giallo.

Nell'animale da esperimento e con particolare evidenza nella cavia e nel topo di fogna il germe passa con rapidità notevole e costante nel sangue (fig. 12, pag. 506 e fig. 8, pag. 504).

Il complesso dei risultati ottenuti indirizza il nostro orientamento verso il gruppo del *vibrione settico*.

Al fine però di una identificazione il più possibilmente precisa, ho provveduto ad un esame di confronto di due degli stipiti da me studiati, sulla base delle prove di agglutinazione e di neutralizzazione:

1°) Col campione di *V. settico* (originale).

2°) Col campione di *C. S. II*.

Confronto del *V. settico*. — A questo scopo fu sperimentato il potere agglutinante e la prova della neutralizzazione.

L'agglutinazione, col siero agglutinante del vibrione, non fornì dati uniformi per tutti gli stipiti. Due di questi agglutinarono a diluizione elevata (1×800); altri invece a diluizioni basse (1×50).

La prova della neutralizzazione col siero antitossico del *vibrione settico*, riuscì *positiva*.

3.° Gruppo (2 casi: ottobre 1916-aprile 1917).

Sede della ferita. — Gamba, con frattura della tibia, 1 volta; piede, frattura comminuta, 1 volta.

Quadro anatomico prevalente. — *Edema sieroso, roseo, lievemente gelatinoso, del sottocutaneo; scarso gas: muscoli umidi, rosei, edematosi.*

Sopravvivenza. — 78 e 46 ore.

Prelevamento del sangue per emocoltura da 14 a 20 ore dopo la ferita; la prova biologica fu eseguita in un solo caso: una prima iniezione, eseguita con sangue del ferito (64 ore prima della morte, 14 dopo la ferita) sortì esito negativo; la seconda iniezione, eseguita con sangue prelevato 17 ore prima della morte uccise gli animali col quadro che verremo esponendo.

Col sangue del cuore, attinto nell'animale agonizzante, furono allestite colture nei vari mezzi, con sviluppo del germe in coltura pura, similmente a quanto si ottenne col sangue del ferito.

Negli strisci con sangue dei pazienti, il reperto fu sempre negativo: molto incostante fu il reperto negli strisci di sangue delle cavia a differenza del gruppo precedente.

Il germe isolato dal sangue dei due feriti risponde ai seguenti caratteri:

a) **Colonia.** In agar. — Svi uppo abbastanza facile, strettamente anaerobio; dimensioni sempre modeste. Ad *occhio nudo* le coloniette sono appena visibili, dopo 16-18 ore, sotto forma di punticini bianchi rotondeggianti. *Alla*

lente: centro lievemente opaco, gialletto, contorno sfumato, irregolare; *al microscopio*: la colonia di 24 ore presenta un nucleo centrale nettamente spiccato, ora opaco ora sotto forma di anello granuloso; nell'un caso e nell'altro dal nucleo centrale si dipartono filamenti ora corti e con qualche anastomosi reciproca, ora più lunghi, sottili, con rigonfiamenti sferoidali; talvolta il centro è costituito da molteplici anelli, dal quale si dipartono sottili prolungamenti, con rigonfiamenti a corona di rosario: tal'altra infine il nucleo centrale è costituito da un anello granuloso, provvisto di un ciuffo molto accentuato, che par dipartirsi dal centro.

L'inizio della colonia si può seguire con una certa facilità se si dispone di un terreno molto trasparente e se le colonie non sono soverchiamente numerose. Nelle figure a pag. 514 sono appunto riprodotti stadi diversi di colonie, da 4-6 ore fino a sviluppo completo: meglio d'ogni descrizione, varrà quindi l'esame delle figure: le figure 2, 3, 4 e 5, ad es., rappresentano stadi diversi di una identica colonia, ottenuta colla brodo-coltura della colonia della fig. 1; la fig. 6 ritrae l'aspetto di una colonia semi-chiusa; le figure 7, 8, 9 e 10 si riferiscono a colonie in agar, ottenute con brodo-coltura, allestite col sangue del cuore di altrettante cavie, inoculate in serie; di alcune colonie sono ritratte fasi diverse di sviluppo (fig. 12 e fig. 14).

Per l'accertamento, ogni colonia venne trapiantata in brodo: questo, iniettato nella cavia, ne provocò la morte colle modalità già riscontrate. In tale modo fu possibile: 1°) *accertare la patogenicità di ogni singola colonia esaminata*; 2°) *riconfermare i caratteri già noti del germe sì nei terreni di coltura che nei liquidi patologici*.

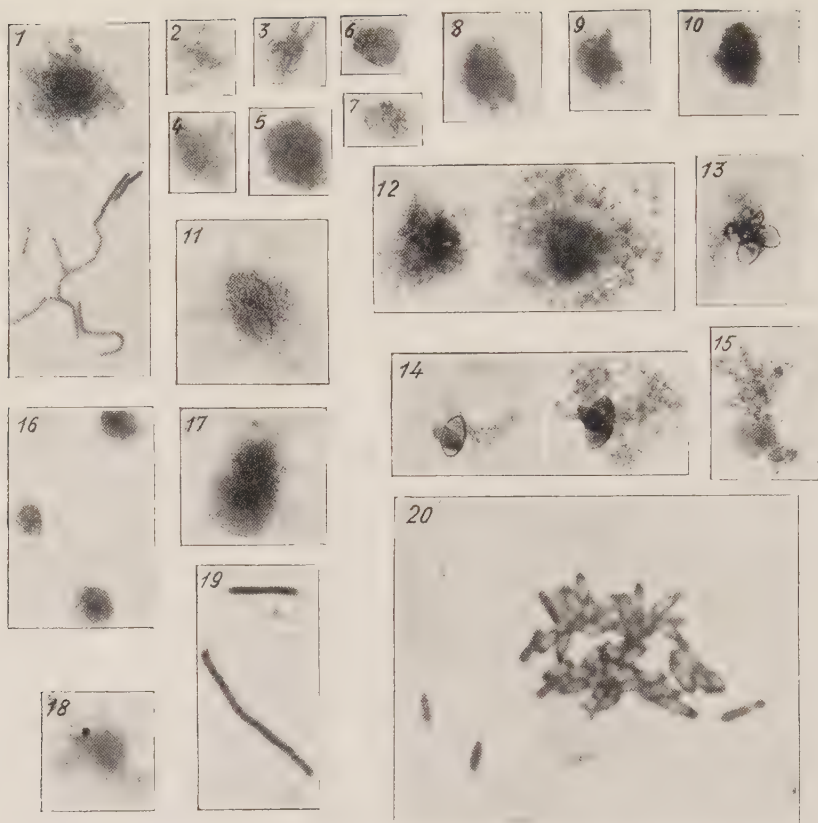
Per questo studio, il sangue del cuore, attinto dall'animale vivente o appena morto, offre il migliore materiale; il liquido peritoneale può pure servire, e procedendo nella guisa da me descritta, cioè eseguendo le autopsie ad animale agonizzante, le possibilità di associazioni, per passaggio di germi dall'intestino, sono ridotte alla minima espressione: in circa duecento colture dal liquido peritoneale, scarsi furono i casi di associazioni microbiche, quasi sempre a carattere putrefacente.

Il liquido sottocutaneo, è meno consigliabile, stante la maggiore difficoltà a disporre di materiale puro; tuttavia esso pure fornisce spesso risultati del tutto soddisfacenti.

Torniamo a ripetere però che, se l'autopsia viene eseguita alquanto in ritardo, le eventualità di associazioni e di reperti erronei è da tenersi sempre presente, qualunque sia il materiale utilizzato (sangue del cuore, liquido peritoneale, ecc.).

b) Germe. — 1.° *Forma e dimensioni.* — In agar di 24 ore: bastoncino spesso lievemente ricurvo, ad estremità arrotondate, isolato, a due o in brevi catenelle, a protoplasma uniformemente ben colorato; le catenelle sono composte abitualmente di 3-4 articoli, meno frequentemente da un numero maggiore. Le dimensioni del germe sono le seguenti: lunghezza da 5 a 8,50 μ ; larghezza μ . 0,90. La sporificazione in agar è abbastanza sollecita; le spore, ovoidi, lunghe circa 1 μ , si rendono facilmente libere (fig. 20, pag. 514).

Nel brodo glucosato, il germe si presenta come un bastoncino compatto, senza accenno a forma degenerativa; la sporificazione è talvolta precoce (fig. 21, pag. 514) ora col tipo centrale, ora con quello paraterminale.



Nei tessuti della ferita e nel liquido d'edema, numerose le forme sporificanti, col tipo paraterminale (fig. 1 e 4, pag. 517).

Liquidi patologici dell'animale: nel sottocutaneo il germe è alquanto più spesso che in agar, raggiungendo la larghezza di $\mu. 1,10 \times 1,20$; frequentemente è in catena di 4-6 individui; nel peritoneo è lievemente più lungo e sporificato (fig. 3, pag. 517).

Si nel cellulare che nel peritoneo il germe, talvolta sporificato, appare contornato da un alone capsulare.

Nel liquido peritoneale, più che alla superficie del fegato, il germe assume talvolta conformazione filamentosa: raro però il vero filamento ed invece abbastanza frequente la presenza di lunghe catenelle. Nella parte sperimentale vedremo più da vicino tale comportamento.

2.° *Colorabilità*. — Facilissima sì nei terreni solidi che nei liquidi; il germe, anche nelle colture di parecchi giorni, si presenta agevolmente colorabile colla fuxina basica, collo Ziehl, col bleu di metilene: il germe resiste al Gram, anche nella coltura in agar di vecchia data.

Nei tessuti patologici, risalta un alone chiaro bene pronunziato.

3.° *Sporificazione*. — Precoce nei terreni liquidi, con o senza glucosio. Nel brodo glucosato la spora è ovale, voluminosa, ben tingibile, lunga 1,8-2; larga 1,3-1,5 (fig. 21, pag. 514).

La sporificazione si osserva, inoltre, *in vivo*:

1° nel *cellulare*, ove talvolta è molto abbondante:

2° nel *peritoneo*, specialmente del *puleino*.

La spora il più spesso è paraterminale e leggermente rigonfia: nel peritoneo, è alquanto più esile ed allungata che non nel cellulare (fig. 3, pag. 514).

Esaminando i tessuti a qualche ora dalla morte, le spore sono talvolta straordinariamente numerose.

Fra i terreni di coltura, *notevole la sporificazione nella bile di bue*, col tipo paraterminale.

Sì nei mezzi culturali che nei tessuti la spora con facilità si trova libera.

4.° *Mobilità*. — *Ciglia*. — Nei liquidi patologici il germe possiede movimenti di traslazione ben evidenti, con ondulazioni eleganti, anche nei germi articolati (sottocutaneo); il movimento è elicoidale, quasi mai vorticoso.

Nell'agar la mobilità è scarsissima.

Nel brodo recente qualche germe ha movimento di traslazione abbastanza evidente, ma non vivace: la maggior parte dei bastoncini rimane immobile od è animata da scarsi movimenti vibratori. A segnalarsi: la *tendenza all'autoagglutinazione*. Nella bile i germi sono presso che del tutto immobili, così, nel brodo di cervello. In complesso quindi la mobilità è un attributo *presso che limitato ai liquidi patologici*.

Le ciglia sono in numero di 8-12, peritriche.

5.° *Resistenza*. — Molto notevole al riscaldamento, nelle forme sporulate (100°-105°); all'essicamento il germe resiste indefinitamente, sì nelle colture liquide che nei tessuti animali (*muscoli, sangue*).

6.° *Caratteri culturali*. — Brodo al fegato glucosato. — Sviluppo facile con intorbidamento talvolta molto notevole, uniforme; lo sviluppo è più rapido, ma con minore intorbidamento, nel brodo di muscolo di cavallo anziché di bue; il gas, discretamente abbondante.

Nello spazio di 24 ore, formazione di un sedimento fioccoso, tenue, che si comprime lentamente e talvolta occupa una buona metà del liquido; odore pressochè nullo; talvolta, di alcool etilico; nelle colture vecchie, odore, poco accentuato, di formaggio guasto. Nel liquido e nel frammento di fegato, nessun cambiamento di colore. Sporificazione entro le 48 ore.

Brodo Martin glucosato + fegato. — Sviluppo rigoglioso, con maggiore quantità di gas e più notevole intorbidamento; talvolta, auto-agglutinazione.

Brodo al fegato non glucosato. — Forte intorbidamento, minore sviluppo di gas; sporificazione abbondante.

Sangue umano. — Dissolvimento del coagulo entro le 24 ore; laccatura: sporulazione abbondantissima, con due spore libere e paraterminali.

Emulsione di cervello. — Discreta quantità di gas nelle 24 ore: il germe vi cresce in bastoncini isolati o in corte catenelle; sporulazione vivace, con spora libera, oblunga e paraterminale, leggerissimamente debordante dal corpo bacillare, debole acidificazione, nessun annerimento.

Latte. — Coagulazione lenta, massiva: il coagulo si presenta a blocchi bucherellati ed occupa metà della coltura, oppure è massivo, omogeneo, con separazione di liquido torbido; acidificazione; spore libere coi soliti caratteri, vivace la sporulazione a tipo paraterminale; qualche forma filamentosa molto esile.

Latte al tornasole. — Rapida decolorazione: viraggio in rosso.

Bile di bue. — Discreta quantità di gas: bastoncini più sottili, sporificazione accentuata, spore paraterminali oblunghe; con facilità, spora libera ovale, allungata.

Liquido di Zacherl. — Viraggio in rosso.

Emulsione di muscolo umano. — Sviluppo abbondante con rigonfiamento della fibra muscolare e successivo rammollimento; sporificazione.

Emulsione di muscolo bovino. — Caratteri identici ai precedenti.

Siero di bue coagulato. — Il siero non viene disciolto; solo dopo molto tempo si forma scarsa quantità di liquido lievemente torbido; reazione acida, talvolta molto spiccata.

Gelatina al 20 % non glucosata. — Fusione abbastanza rapida.

Gelatina al 20 % glucosata — Rapida fluidificazione.

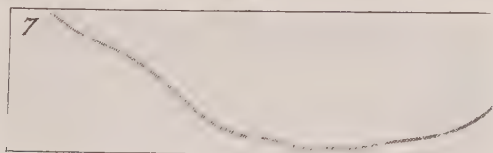
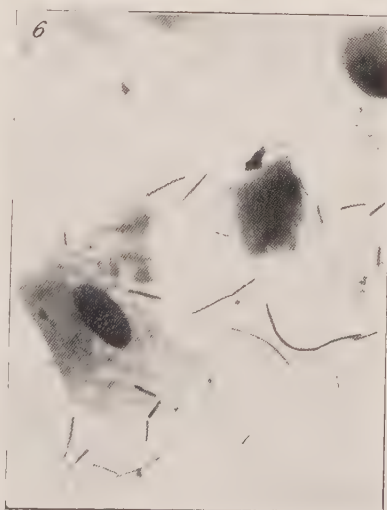
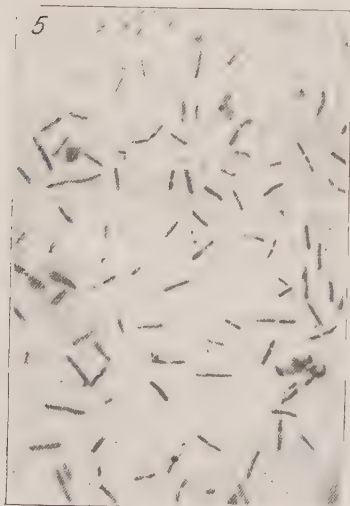
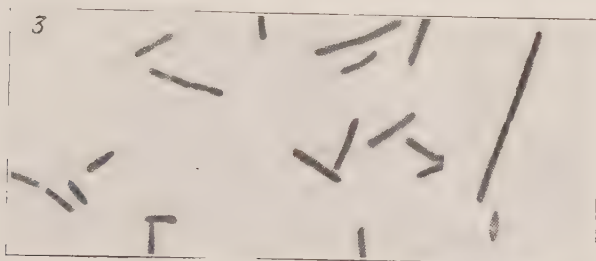
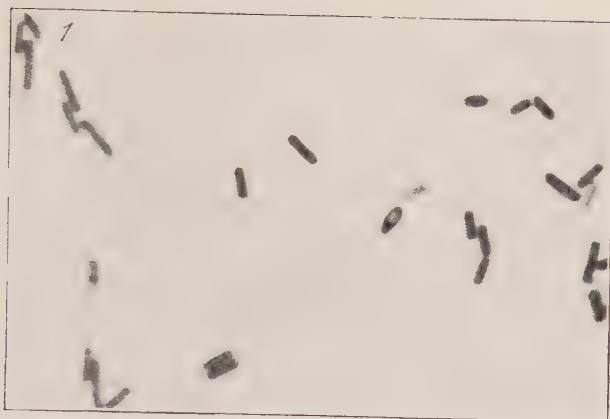
7.° *Proprietà saccarificanti.* — Fermentazione rapida del *glucosio*, *lattosio*, *levulosio*, *glucosio*, meno, dell' *arabinosio*.

Nel *glucosio*, sviluppo rigoglioso; nel *levulosio*, sviluppo stentato, con forme granulose e spore; nel *lattosio*, e nell' *arabinosio*, sviluppo vivace; in tutti, variabile quantità di gas e di acido.

Nel *galattosio*, nell' *inulina* e nella *glicerina* il germe acidifica il mezzo, senza svolgimento di gas,

8.° *Proprietà patogene.* — *Cavia*, *topo di fogna*, *coniglio*, *pulcino*, sono animali sensibili, tanto alla inoculazione sottocutanea ed intramuscolare, che alla endovenosa; il *cane* sembra pure ricettivo.

Fra i mezzi culturali sperimentati, il brodo MARTIN, il brodo glucosato al fegato, il brodo di cervello si dimostrarono i meglio rispondenti: la coltura in latte è forse di azione alquanto meno pronta; tuttavia, essa riesce mortale alla cavia per iniezione sottocutanea alla dose di $\frac{1}{10}$ di cc. per 100 gr. di peso in 8-10 ore.



Particolarmente attiva si dimostra l'inoculazione, sotto cute, di sierosità di edema o di liquido peritoneale: alla dose di $\frac{1}{10}$ di cc. per cavia di 350-400 grammi la morte avviene nel termine di 6-8 ore.

L'invecchiamento poco o punto pregiudica la virulenza del liquido di coltura; inoltre, frammenti di muscolo raccolti sterilmente ed essiccati al termostato per 4-5 giorni, provocano la morte degli animali anche dopo parecchi mesi dalla loro preparazione. Come già per altri germi sporigeni, costituì questo un ottimo metodo per la conservazione del materiale di studio.

9.^o *Prodotti.* — a) Tossina solubile. — La preparazione fu ottenuta coltivando il germe in *brodo glucosato* al fegato e *brodo Martin*: buoni risultati si ottennero coll'aggiunta, al brodo, di bile di bue o di sangue umano defibrinato.

La coltura di 36 ore in brodo, filtrata alla BEKERFELD, si dimostra fornita di proprietà tossiche rilevanti; gli effetti mortali dell'inoculazione però, non sono molto pronti. La cavia infatti, inoculata in giugulare con 2 cc. di filtrato (cavie di 400 grammi), muore in 5-9 ore col seguente quadro:

Immediatamente dopo l'iniezione, la temperatura rettale si abbassa fortemente: l'animale ha tremori; al primo abbassamento, tien dietro un lieve rialzo, al quale segue un definitivo abbassamento, che dura per $\frac{1}{3}$ della sopravvivenza. Non esistono fatti irritativi; la morte sopraggiunge in piena calma.

All'*autopsia*. — Muscoli per lo più pallidi; nel cellulare sottocutaneo e nel peritoneo o assenza o scarsità di liquido. Fegato scuro: reni pallidi, edematosi: milza di colorito alquanto più carico del normale.

La coltura del sangue e del fegato risulta negativa.

Per iniezione sottocutanea nella cavia, il filtrato provoca edema pastoso, pallido, spesso considerevolmente esteso: qualche volta si notano fatti ulcerativi con formazione di un escara secca: come fatti generali, si può notare diarrea e lieve dimagrimento. Da questi disturbi l'animale si rimette completamente.

b) Emotossina. — L'azione emolitica sui globuli rossi umani e di coniglio non è molto spiccata, nè completa: ancor meno, quella sui globuli rossi di cane.

c) Emo-agglutinina. — L'attività agglutinante sui globuli rossi umani, di cavia e di coniglio non è nè uniforme nè costante.

10.^o *Reazioni immunitarie.* — a) Agglutinina. — Un siero agglutinante fu preparato dal coniglio con uno dei campioni: questo siero agglutina il campione omologo all' 1×800 - 1×600 ; l'altro campione viene agglutinato in diluizione all' 1×150 .

b) Antitossina — I risultati della preparazione tentata nel coniglio mediante l'iniezione di coltura filtrata non furono soddisfacenti. Nell'impossibilità di disporre di grossi animali, fu tentato di utilizzare il cane, iniettando la coltura in *toto*. L'animale adoperato venne però a morte in 8.^a giornata dall'unica iniezione praticata.

11.^o *Riproduzione sperimentale.*

Cavia.

Ventisette furono gli animali inoculati con brodo-coltura; dalla 14.^a alla 27.^a cavia furono eseguiti passaggi in serie, mediante coltura del sangue del cuore.

Materiale inoculato. — Brodo di bue, di cavallo, al fegato, brodo *Martin*.

Età della coltura. — 36-72 ore. Dose: da $\frac{1}{10}$ ad $\frac{1}{4}$ di cc. per 100 gr. di peso.

Sopravvivenza: da 4 a 27 ore.

a) *Via sottocutanea.* — *Sintomatologia clinica.* — L'animale subito dopo l'iniezione e, nei casi di più lunga sopravvivenza, anche nelle prime 2-3 ore, non manifesta segni di sofferenza nè di irritazione; è piuttosto vivace e mangia: il rialzo termico è di poco conto e fugace: ma invece talvolta già dopo 1 ora si nota l'abbassamento termico di 1.° grado; tale abbassamento si accentua nelle ore successive e talvolta con tanta rapidità da assumere i caratteri della vera ipotermia (34°) nello spazio di 3-4 ore. Con tutto ciò l'animale conserva una certa vivacità, mangia e non ha il pelo arruffato: emette dei gridi soltanto se toccato, non fa sbalzi nè ha contratture tonico-cloniche. L'ipotermia in qualche caso è accentuatissima sino dalla 2ª ora (Cavia 14ª di gr. 280, inoculata con 1 cc. di brodo-coltura; da 38,8 a 34° dopo 2 ore).

Gradualmente però i fatti generali si delineano, specialmente con una respirazione quasi stertorosa; l'animale diminuisce in vivacità e sta adagiato sul treno posteriore. Manca quel caratteristico raggomitolamento, accennato per gli animali del 1° ed anche del 2° gruppo.

Localmente, talvolta, nessun fatto bene evidente; il più spesso però si delinea e poi si accentua un'area leggermente arrossata in corrispondenza del punto inoculato, con lievissimo crepitio.

La morte avviene calma, frequentemente dopo un periodo relativamente lungo di ipotermia (¹).

Autopsia. — I reperti sotto alcuni riguardi non sono del tutto uniformi; in alcuni animali (cavia 12ª), la cute della parete addominale, tanto in vicinanza che a distanza dalla regione inoculata, può non presentare alcuna alterazione nel colorito; nessun fatto di enfisma è rilevabile nel sottocutaneo; muscoli pallidi, quasi cerei, non infiltrati; poco liquido citrino, limpido nel sotto-cutaneo, *fegato, milza, reni, capsule surrenali* fortemente congesti; *polmoni*, di colorito normale o a chiazze iperemiche.

Altre volte invece: liquido lievemente rossiccio nel cellulare sottocutaneo, con muscoli poco modificati nel colorito e di consistenza normale.

Nel peritoneo scarso liquido rossiccio, trasparente, coagulabile con molta difficoltà.

In altri infine, edema gelatinoso, sanguinolento nel cellulare sottocutaneo, e liquido roseo, limpido, difficilmente coagulabile nel peritoneo. Anche in questa terza eventualità i muscoli non sono che *mediocrementemente rossi* e si presentano molto umidi; talvolta, piccole aree di *rammollimento* muscolare, specialmente nel punto di inoculazione.

In tutti i casi, la quantità di gas è molto mediocre, talchè i fatti anatomici predominanti sono costituiti dall'edema sieroso o siero-gelatinoso, più o meno ematico; notevole in alcuni casi l'*acidità* del liquido di edema saggiata colla cartina al tornasole.

(¹) Sotto questo riguardo esiste analogia col 5.º gruppo.

Il reperto bacterioscopico offre le seguenti caratteristiche:

Nel cellulare sottocutaneo bastoncini isolati o a due, piuttosto tozzi, ben colorabili, costantemente sporificati, col tipo paraterminale (fig. 1 e 2, pagina 517); essi sono dotati di una discreta mobilità, consistente in movimenti di traslazione *serpentiniformi*, più raramente *elicoidali*: la mobilità in goccia pendente si conserva per breve tempo e talvolta dopo 10-12 minuti il germe appare immobile.

Nel *peritoneo* ed alla superficie del *fegato*, il germe può pure trovarsi sporificato (fig. 3, pag. 517); le spore sono grandi, ovali, centrali o sub-terminali. Il germe, in linea di massima, non si presenta in filamenti, ma bensì ad elementi isolati, accoppiati a due o in brevi catenelle (fig. 4: ing. di 1400 D. e fig. 5 ing. di 700 D., pag. 517).

Tuttavia nei passaggi seriali eseguiti dalla cavia 14^a alla 27^a e da questa al coniglio si è assistito al succedersi di evidenti modificazioni nel modo di presentarsi del germe, tanto che nelle cavie 24, 26 e 27 e nel coniglio il germe nel peritoneo, se non in veri, lunghi filamenti, presentavasi tuttavia sotto forma filamentosa ben pronunciata ed evidente (fig. 6 e 7, ingr. 700 D., pag. 517).

Fra le lesioni viscerali più evidenti sono da accennarsi: frequente perforazione dello stomaco, con stravasato quasi totale del contenuto gastrico nel peritoneo; tale fatto si verificò nei nostri animali con una percentuale del 10% circa.

Il fegato, la milza ed il rene sono di colorito scuro, meno frequentemente slavati o colore di foglia morta; le capsule surrenali quasi sempre fortemente congeste.

Asse cerebro-spinale. — Meningi considerevolmente iperemiche; sostanza cerebrale edematosa; nel cavo meningeo, liquido lievissimamente corpuscolato; ponte e midollo allungato, rosso-cupì.

Arti posteriori. — La radice dell'arto corrispondente alla parte iniettata è quasi sempre aumentata notevolmente in volume per edema a tipo segmentario (a tutto spessore); muscoli il più delle volte pallidi, rigonfi; vene di piccolo e medio calibro, trombizzate; a ridosso dello scheletro femorale, liquido siero-ematico e qualche bollicina di gas.

I visceri, conservati sterilmente a temperatura ambiente (14°-18°), assumono facilmente un colorito nerastro e diventano deliquescenti, con scarsa tendenza all'aereazione.

b) Via endo-muscolare. — I fatti generali sono presso a poco quelli descritti in precedenza.

Localmente si osserva costantemente la formazione di una intumescenza dura, che interessa la radice dell'arto corrispondente al lato iniettato e talvolta si estende alla parte bassa del fianco. Questa tumefazione può presentare qualche crepitio, ma in linea generale l'aereazione è poco o nulla pronunciata.

All' autopsia: fatti locali alquanto meglio pronunciati. Nel sotto-cutaneo, liquido gelatinoso, variamente colorato; muscoli della coscia e del fianco tumefatti, umidi, con area necrotica, talvolta molto vasta e corrispondente al punto dell'iniezione; liquido roseo, misto a grosse bolle di gas ed a forte quantità di detriti. Non è raro che lo scheletro della radice dell'arto sia posto a nudo.

I vasi superficiali e profondi sono spesso trombizzati; il trombo non è aereato.

A distanza dal focolaio, i muscoli sono lievemente arrossati e tra essi e le aponevrosi si rileva la presenza di qualche bollicina di gas. Il liquido di edema è lievemente corpuscolato e coagula molto lentamente.

c) Via endovenosa. — La morte segue in poche ore, alla dose di $\frac{1}{10}$ di cc. per 100 gr. di peso: talora è rapidissima (10-15 minuti).

Topo di fogna.

Presenta presso a poco i fatti segnalati nella cavia.

Coniglio.

Il quadro generale è identico a quello della cavia; con maggiore costanza notasi l'assenza di arrossamento dei muscoli e di fatti emorragici in genere; nel sotto-cutaneo scarso edema pallido e leggermente gelatinoso; qua e là qualche focolaio scuro, nei pressi del punto di inoculazione; nel peritoneo, poco liquido leggermente roseo; *fegato*, *milza* e *rene* notevolmente iperemici; *stomaco* e *digiuno* congesti; nel cellulare retroperitoneale, nessuna traccia di gas.

Nel torace: polmoni con focolai iperemici, qualche area bluastra alla base.

Pulcino.

Alquanto più resistente, muore in circa 20 ore, dietro inoculazione sotto la cute dell'addome di circa $\frac{1}{2}$ cc. per 160 gr. di peso. All'autopsia si trova: cute della zona iniettata lievemente arrossata ed edematosa; nel sottocutaneo poco liquido gelatinoso, muscoli dell'addome e del petto di colorito presso a poco normale; lievissime bollicine di gas.

Nel peritoneo. — Scarsissimo liquido sieroso.

Fegato e milza. — Scuri.

Polmoni. — A macchie rosso-scuri.

Nei riguardi bacterioscopici a notarsi:

1°) la forte quantità di spore tanto nel cellulare che nel peritoneo.

2°) La mancanza assoluta di filamenti e di forme filamentose nel deritoneo ed alla superficie del fegato: il germe, invece, si presenta quasi sempre isolato, e sottile.

Cane.

Nell'unico animale adoperato, un robusto animale di 10 kg., furono iniettati sotto cute nella regione del fianco sinistro, 3 cc. di una brodcultura di 7 giorni; l'animale, il giorno dopo, cominciò a rifiutare il cibo; nei susseguenti si mantenne depresso; localmente, verso il 5° giorno, si manifestò una zona cutanea necrotica, che andò sempre più ingrandendosi, fino a che, caduta in isfacelo, lasciò a nudo l'aponevrosi sottostante.

Il cane morì in 8ª giornata.

All'autopsia, eseguita qualche ora dopo la morte, si trovò quanto segue:

Ampie zone di sfacelo in corrispondenza del fianco; aponevrosi di involucro sfilibrata, muscoli pallidi, esangui: nessuna traccia di enfisema; scarso liquido di edema, pallido.

Come considerazione generale, a notarsi la *estrema rarità* di reperti positivi nei preparati di sangue a striscio: in uno solo dei nostri animali, dei 38 adoperati (cavia, topo, coniglio, pulcino), fu possibile mettere in evidenza il germe su strisci del sangue attinto dal cuore (cavia 17^a); il germe del sangue in tale osservazione, si presentava in lunghe catenelle od in corti filamenti.

L'emocoltura riuscì negativa in un solo caso (cavia 19^a); la coltura dal fegato e dal liquido peritoneale riuscì costantemente positiva, con sviluppo in coltura pura del germe inoculato.

In una cavia (18^a) ci trovammo dinanzi ad un reperto interessante, se non altro perchè una volta di più dimostrasi tutta la somma di precauzioni necessarie in questo genere di indagini.

L'animale, iniettato alle ore 18,30 del 25-9-19, moriva alle ore 7 del mattino appresso. L'autopsia venne eseguita tre ore dopo la morte.

Come di consueto, fu eseguita la coltura dal sangue del cuore, dal fegato e dal liquido peritoneale. Da questi due ultimi ebbesi sviluppo del solito germe e la cavia (20^a), iniettata con 6 gocce di liquido peritoneale, diluito con soluzione fisiologica sterile, moriva in 7 ore, col quadro caratteristico.

Colle colture dal fegato e dal peritoneo vennero allestite piatte di agar, nelle quali si ebbe sviluppo delle sole coloniette, già riscontrate in tutte le altre osservazioni.

Dal sangue invece ebbesi il reperto seguente:

Bacilli facilissimamente sporigeni, con *spore terminali a bacchetta di tamburo*: in agar, la coltura diede luogo a coloniette quasi chiuse.

L'inoculazione di coltura in brodo e di coltura in latte provocò nella cavia rialzo termico (da 38,5 a 40,2): localmente, bozza areata, nei giorni susseguenti sostituita da una tumefazione ghiandolare all'inguine, non aderente alla cute; l'animale, dopo passeggero malessere, si ristabilì completamente; dopo due mesi venne sacrificato e l'autopsia mise in evidenza numerosi noduli nella milza. Il caso è, attualmente, oggetto di studio.

Nel pulcino, l'inoculazione sotto cute alla radice dell'ala, di coltura in latte, non fu seguita da alcuna manifestazione morbosa.

RIASSUNTO ED IDENTIFICAZIONE.

I caratteri del germe possono venire riassunti nel modo seguente:

Anaerobio strettissimo, condizionatamente mobile, altamente sporigeno (terreni di coltura e liquidi patologici), con scarsa tendenza a penetrare nel sangue, saccarolitico efficace, fondente la gelatina, con lieve azione sulla caseina, a chemismo non putrido: Gram-resistente; abitualmente non in filamenti, tanto nei mezzi colturali che nel peritoneo ed alla superficie dei visceri.

Nell'uomo e nell'animale ricettivo provoca lesioni prevalentemente edematose a tipo lievemente emorragico, mai o quasi mai accompagnate da arrossamento deciso dei muscoli; scarsa e non

costante la formazione di gas, tanto in vita che dopo morte (organi schiumosi).

Cavia, topo, coniglio, pulcino, sono animali ricettivi: il cane non appare refrattario, poichè l'inoculazione sotto-cutanea può provocare la morte dell'animale.

Per l'identificazione furono esperite le seguenti prove:

a) dell'agglutinazione col siero agglutinante antivibrione settico:

b) della neutralizzazione col siero anticarbonchio sintomatico II° ed antioedematiens:

c) della neutralizzazione col siero antivibrione settico.

I risultati furono i seguenti:

a) la prova dell'agglutinazione col siero agglutinante antivibrione settico $1 \times 800 - 1 \times 600$; 1×400 , 1×100 , riuscì negativa; leggermente manifesta, all' 1×25 .

b) la prova di neutralizzazione col siero anticarbonchio II° ed antioedematiens riuscì pure negativa;

c) la neutralizzazione col siero antivibrione settico riuscì positiva.

4.° Gruppo (2 casi: settembre 1917).

Sede della ferita. — Anca sinistra con proiettile ritenuto nella massa dei glutei, 1 volta; base toracica e coscia sinistra con proiettile ritenuto e frattura di coste, 1 volta.

Quadro anatomico prevalente. — *Infiltrazione massiva, dura, a tutto spessore delle parti molli dell'arto inferiore sinistro, particolarmente nel I° caso (v. fig. pag. 524).*

Flittene voluminose variamente disseminate: cute scura, marmorizzata, lieve enfisema e notevole edema emorragico nel sottocutaneo; muscoli rosei, duri, enfisema dello scroto (I° caso).

Sopravvivenza. — da 37 a 50 ore.

Prelevamento del sangue. — (23 e 7 ore prima della morte).

Le colture risultarono rapidamente positive; tuttavia una cavia inoculata in peritoneo con sangue del ferito, colturalmente positivo, sopravvisse, dopo un periodo transitorio di malessere.

All'autopsia del cadavere in ambedue i casi (10'-15' dopo la morte) furono riscontrati: milza rosso-mattone, spappolabile,

rene iperemico, fegato voluminoso, pallido sulla superficie inferiore, rosso scuro nella superiore.

L' esame del sangue in *vivo*, a striscio, riescì negativo : lasciato in termostato, al 3.^o giorno, il coagulo presentavasi completamente disciolto: numerosi i bastoncini a due, senza tendenza al filamento, forme atipiche, degenerative, numerose.

Il germe, isolato dal sangue dei feriti e dal peritoneo della cavia, presenta un complesso di caratteri, che riassumeremo, mettendo in vista i fatti più salienti.



Anzitutto, è degno di menzione il quadro anatomico locale, particolarmente evidente in uno dei feriti, al quale si riferisce la figura quì sopra, quadro anatomico, specialmente caratterizzato da edema duro, lievemente roseo, diffuso a tutto spessore nei tessuti della località ferita, e, nel caso sopra indicato, a tutto l'arto inferiore sinistro. Per l' *assenza di liquido emorragico, per l'aspetto quasi gelatinoso compatto dei muscoli nella superficie di taglio, per la insignificante aereazione*, le lesioni differenziavansi profondamente da quelle riscontrate nei feriti del 1.^o e 2.^o gruppo.

A completare le indicazioni, aggiungeremo che nel 1.^o caso trattavasi di ferita a fondo ceco da pallottola di fucile, interessante la regione glutea sinistra: il proiettile all'autopsia trovossi schiacciato contro la regione posteriore dell'acetabolo, a livello della quale, soltanto, esisteva una raccolta sanguinolenta, di modiche proporzioni. Ferito alle ore 14 circa del 31 agosto 1917, riceveva le prime cure chirurgiche (sbrigliamento e detersione della ferita), alle ore 19 dello stesso giorno. Nel mattino seguente le condizioni della parte offrivano già sintomi allarmanti (tensione notevole, dolorabilità), che furono ben presto avvalorati da un aggravamento sensibilissimo dello stato generale. Vennero tosto iniettati, per via endovenosa, 40 cc. di siero *antiribrone* dell'Istituto siero-terapico di Milano. Nel pomeriggio, la regione glutea e la coscia, enormemente aumentate in volume, cagionavano al ferito intense sofferenze; un più ampio sbrigliamento provocò soltanto la fuoriuscita di liquido sieroso, roseo-pallido: nessuna sanie, nessun odore nauseante. Nella notte dall'1 al 2 settembre, le condizioni precipitarono ed il paziente moriva alle ore 16,30 del 2 settembre, cioè circa 50 ore a distanza dalla ferita. Il prelevamento del sangue, eseguito alle ore 18 del giorno 1.^o settembre, intanto aveva già svelato (ore 12 del 2 settembre), la presenza di un bacillo non putrefacente.

All'autopsia del cadavere, eseguita 10' dopo la morte, si trovò un tipo di germe, apparentemente unico, in tutti i visceri esaminati (milza, fegato e rene). Reperto identico si ottenne dal liquido di flittene e da quello dei tessuti profondi dell'anca.

Nel secondo caso, il reperto locale fu presso a poco analogo. Il ferito, colpito da scheggie multiple di granata alla regione ileo-lombare ed alla coscia sinistra, moriva 37 ore dopo la ferita.

All'autopsia (15' dopo la morte), si riscontrò, oltre i fatti di edema duro spiccato in corrispondenza della massa sacro lombare della regione glutea e della parte superiore della coscia sinistra, anche una ferita penetrante nel cavo pleurico, con frattura della 9.^a costa e ritenzione di una piccola scheggia metallica.

L'esame a striscio del tessuto polmonare, fece rilevare una notevolissima quantità di germi a bastoncino, successivamente identificati con quelli trovati nel sangue prelevato in vivo.

Il tipo della lesione anatomica riscontrato in questi due feriti, particolarmente nel primo, sotto forma di edema duro,

pressochè incolore, sembrami interessante del punto di vista della capacità del germe a provocare un quadro, certamente tra i meno comuni e frequenti.

a) **Colonia.** — Come risulta dalle figure a pag. 527 la colonia in agar è spiccatamente del tipo aperto, non solo, ma si segnala per un centro fortemente e costantemente marcato e, quasi sempre, per una rigogliosissima produzione di filamenti, che, finissimi e strettamente intrecciantisi nelle colonie giovani (Fig. 3^a - 16 ore), si conglomerano, si riuniscono in ciuffetti e si modificano, colla comparsa di produzioni sferoidali, nelle colonie di età più avanzata (Fig. 4 - colonia al 6.^o giorno).

Raramente, la colonia si presenta sotto forma di un centro opaco, denso, circondato da scarsi e corti filamenti (Fig. 7 - 8). Nelle fig. 1 e 2, sono rappresentati gli stadi iniziali di una colonia, rispettivamente alla 6.^a e 14.^a ora.

Vista *ad occhio nudo*, la colonia si offre con aspetto caratteristico: colorito bianco, contorni sfumati, evanescenti: la forma, più frequentemente, è allungata; più di rado, tondeggiante; non è visibile alcun addensamento centrale, neppure nelle colonie in pieno sviluppo.

Alla lente, la colonia, si presenta come un intreccio filamentoso, nel centro del quale può talvolta avvertirsi un addensamento, alquanto più opaco dell'intreccio filamentoso circostante.

Al *microscopio*, la colonia appare costituita da un centro discretamente marcato, a contorno però indeciso; talvolta è possibile mettere in evidenza uno o più anelli.

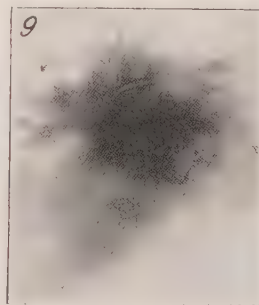
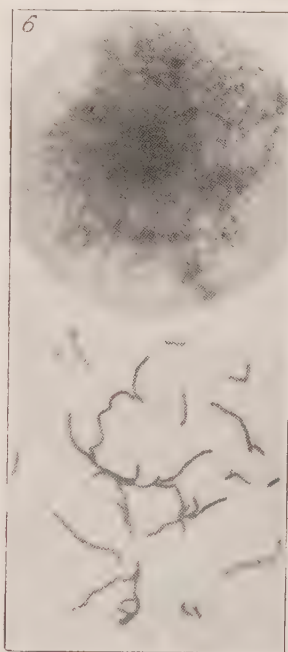
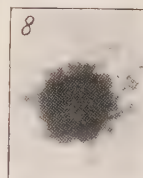
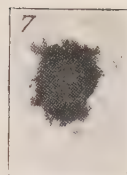
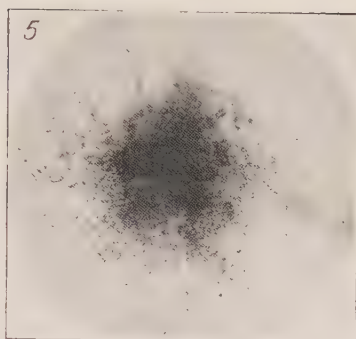
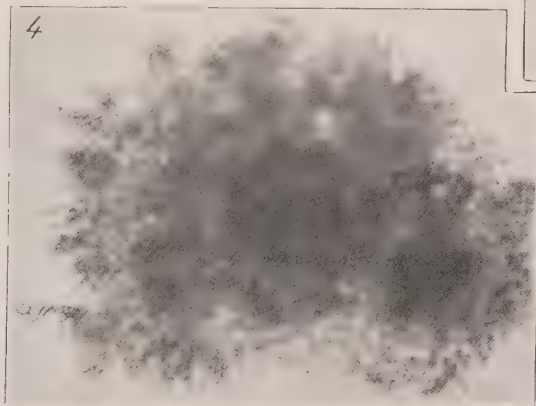
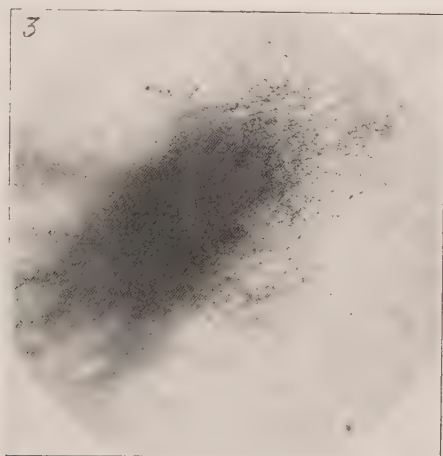
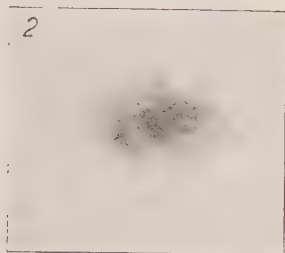
Nelle fasi molto avanzate, verso il 6^o - 8^o giorno, sul tragitto delle già fini diramazioni possono comparire formazioni sferoidali, del tipo di altre descritte, (fig. 5, pag. 527).

La descrizione, qui data, si riferisce alla colonia del germe isolato dal sangue dei feriti, colle modalità già ricordate. Ma in uno dei casi si presentò alla nostra osservazione una eventualità, che credo dover mettere in rilievo.

All'autopsia di uno dei feriti, venne prelevato un frammento di tessuto polmonare, dal quale fu isolato un germe patogeno, dotato delle caratteristiche di quello isolato dal sangue in coltura pura. Quando già lo studio del caso trovavasi avviato nei riguardi del germe isolato coll'emocoltura e caratterizzato dalla colonia ora ricordata, vennero allestite piatte in agar col brodo al fegato, insemenate con tessuto polmonare. Assieme ad un cocco, si ebbe sviluppo di una colonia, ritratta nella fig. 1 della pag. 000. La colonia trapiantata in brodo e ripassata in agar, fornì le colonie ritratte nelle fig. 2, 3, 4 e 5, pag. 529.

La coltura in brodo di 48 ore delle colonie 2, 3, 4 e 5 riuscì patogena per la cavia, procurandone la morte in brevi ore, e con un quadro uniforme, che verremo in appresso descrivendo.

Trapiantata nuovamente in brodo al 15^o giorno, la colonia 1^a diede luogo a sviluppo di numerose colonie, tutte sotto forma ed aspetto del caratteristico batuffolo di ovatta e perfettamente identiche a quelle allestite colla emocoltura (fig. 6, pag. 529).



Per questi caratteri e per altri, frutto di ulteriori ricerche, il germe parve potersi identificare con quello isolato dal sangue: esso quindi verrà accomunato nella descrizione di quest'ultimo.

b) **Germe.** — Anaerobio stretto, mobile, sporigeno, non putrefacente.

1.^o *Forma e dimensioni.* — In agar: (fig. 6, in basso) bastoncino frequentemente ricurvo, ad estremità rotondeggianti, spesso in catenella e in corto filamento, tortuoso, ben colorato; lungo in media μ . 5.10, largo μ . 0.75; nel brodo; bastoncino lievemente più spesso, con tendenza al filamento; nel liquido peritoneale invece è più lungo, fino a μ . 10, 20, mantenendo invariata la larghezza: nel peritoneo ed alla superficie del fegato si può trovare anche in corti filamenti; il più spesso però trattasi di catene di lunghi articoli, (fig. 8, pag. 529).

Caratteristica è la grande facilità a sporulare nei terreni artificiali, specialmente nel brodo glucosato o no (fig. 7, pag. 529) e nel cervello: le spore sono eccezionali nei tessuti dell'animale: estremamente scarse le forme degenerative e quelle di passaggio.

Nel liquido di flittene dei feriti, il germe presentavasi in catenelle di 5 - 6 elementi, senza spore; nel sangue, attinto dal circolo generale, mantenuto in termostato, elementi per le più accoppiati. Nei tessuti circostanti alla ferita, bastoncino non sporulato.

2.^o *Colorabilità.* — Gram-positivo: la resistenza alla decolorazione diminuisce notevolmente coll'inviechiamento. Il germe è molto facilmente colorabile colla fuxina basica e collo Ziehl: il corpo del bacillo, risulta uniformemente ed intensamente colorato; nei liquidi patologici la colorazione riesce bene anche col bleu di metilene.

Nei liquidi patologici (liq. sottocutaneo, liq. peritoneale), può osservarsi un alone chiaro, meno marcato però, che nel germe del 1.^o e 3.^o gruppo.

3.^o *Sporificazione.* — Rapida ed abbondante nel brodo non glucosato, discretamente rigogliosa nella pappa del cervello, scarsa nel latte e nella bile; molto tarda nell'agar. La spora è quasi sempre paraterminale, specialmente nel cervello e debolmente rigonfia, oblunga; con facilità si rende libera ed appare allora sotto aspetto ovalare, lunga μ . 1.6 — 2.5, larga 0.85 — 1: essa è facilmente colorabile colla fuxina basica (fig. 7, pag. 529).

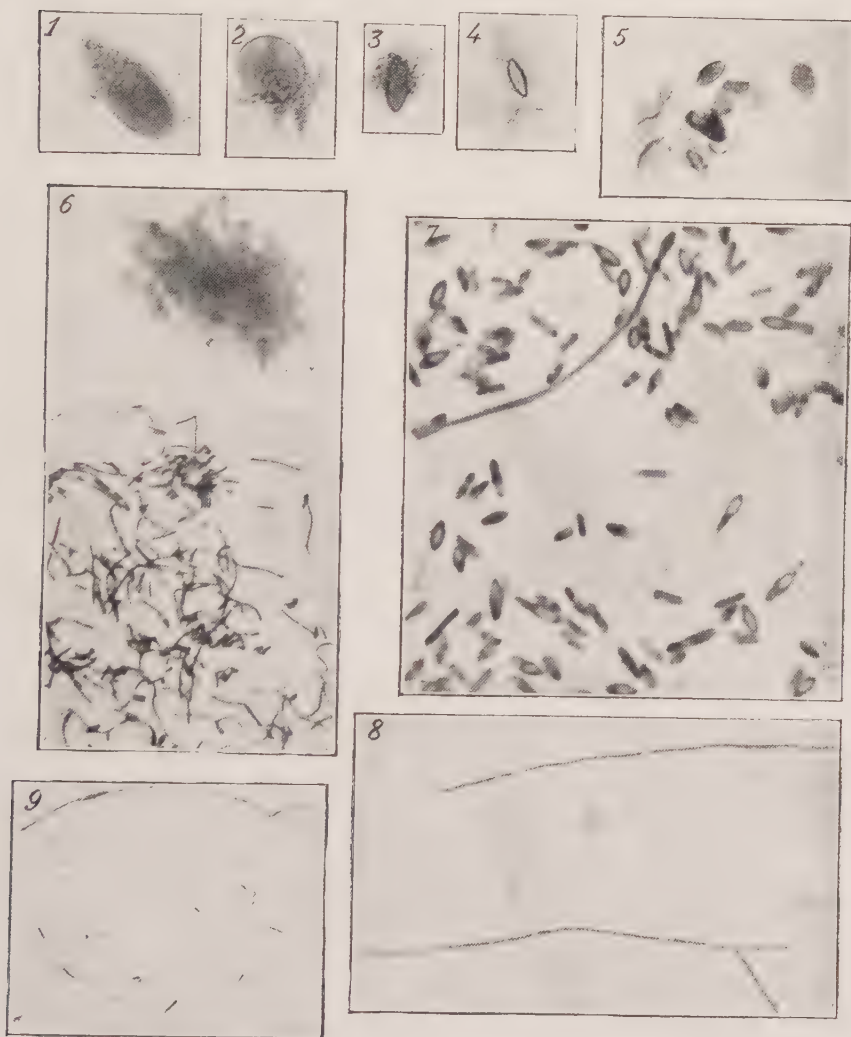
4.^o *Mobilità.* - *Ciglia.* — Il germe possiede movimenti discretamente vivaci, specialmente da parte degli elementi isolati e più corti: gli elementi più lunghi ed appaiati hanno movimenti di traslazione flessuosi, lenti; quasi mai si osservano movimenti elicoidali; il movimento si osserva tanto nei liquidi patologici come nelle colture ed è abbastanza durevole.

Le ciglia, numerose e lunghe, sono peritriche.

5.^o *Resistenza.* — Debole al riscaldamento nelle forme vegetative, è spiccata nelle forme sporulate (a 100° per 15'). Il germe inoltre resiste indefinitamente all'essiccamento, tanto che, colla massima facilità, si ottiene sviluppo rapido in brodo, insemato con residuo secco di sangue del ferito dopo lungo tempo (25 - 26 mesi).

6.^o *Caratteri culturali.* — Brodo al fegato non glucosato (ottimi risultati dà il brodo di carne di cavallo). Sviluppo facile, se l'inseminamento si fa con materiale animale (sangue, liquido sottocutaneo, liq. peritoneale); stentato e talvolta negativo, nel passaggio dall'agar.

Intorbidamento tenue nelle 24 ore, gas in discreta quantità; il frammento di fegato non è acreato: acidificazione marcata, nessun odore sgradevole: nessun sviluppo di indolo: forte sporificazione; forme filamentose abbondanti, assenza di forme degenerative. Rapida sedimentazione, con deposito fioccoso bianco, abbastanza compatto.



Brodo al fegato-glucosato. — Maggiore quantità di gas, intorbidamento uniforme e di grado mediocre, spiccata acidità, odore più marcato di acido butirrico; sporificazione meno abbondante.

Brodo Martin senza e con glucosio. — Sviluppo presso a poco analogo ai precedenti.

Sangue umano. — Nessuna o molto scarsa separazione di siero; il coagulo, formatosi, è lentamente fluidificato, laccatura non molto pronunciata; sporificazione scarsa: sviluppo di bollicine di gas.

Pappa di cervello. — Lievissimo intorbidamento: sviluppo modico di gas, acidificazione: lieve deposito roseo al fondo, nessun annerimento: spore in discreta quantità, sempre o quasi sempre paraterminali, non debordanti dal corpo del bacillo: le spore libere sono lievemente più tondeggianti.

Latte. — Coagulazione in 48 - 72 ore, gas; il coagulo prende quasi sempre l'aspetto di una spugna: la caseina a lungo andare può venire lievemente attaccata, con separazione di liquido torbido; tale attacco però non è costante: spore rare; talvolta qualche filamento. Acidificazione spiccata.

Latte al tornasole. — Decolorazione e viraggio in rosso entro le 48 ore.

Bile di bue. — Sviluppo piuttosto stentato, con germi sottili, talvolta filamentosi; non si mettono in evidenza spore; lenta acidificazione, decolorazione.

Liquido di Zaehrl. — Viraggio in rosa.

Emulsione di muscolo umano. — Sviluppo con discreta quantità di gas; lieve rigonfiamento della fibra muscolare.

Emulsione di muscolo bovino. — Caratteri analoghi ai precedenti.

Siero di bue coagulato. — Qualche filamento, nessuna digestione: spore paraterminali e libere; acidificazione lievissima e tardiva.

Gelatina non glucosata. — Fluidificazione costante e completa.

7.° *Proprietà saccarificanti.* — Il germe fermenta *glucosio*, *saccarosio*, *levulosio*, *lattosio*, meno, il *maltosio*, con produzione di acido carbonico e di acido lattico.

8.° *Proprietà patogene.* — *Cavia* e *topo* di fogna sono gli animali più sensibili: il *coniglio*, quantunque in minore grado, è pure buon materiale di studio, il *pulcino* appare molto più resistente.

La coltura in brodo di 36 ore, alla dose di 0,25 cc. per 100 gr. di peso, uccide la *cavia* sempre entro le 24 ore, talvolta dopo 8-10 ore: il *topo* di fogna presenta una sensibilità presso a poco uguale: il *coniglio* è meno ricettivo.

Il liquido di sierosità sotto-cutanea riesce rapidamente mortale alla dose di 0,1 cc. per inoculazione sotto-cute, in cavie di 350-400 gr. di peso.

L'invecchiamento non modifica sensibilmente il potere patogeno della coltura in brodo. Fra i liquidi culturali efficacemente attivi sta la pappa di cervello, incostantemente il siero di sangue: il latte è di azione non uniforme (v. appresso).

I tessuti patologici (sangue, muscoli), si mantengono attivi per tempo pressochè indeterminato e costituiscono un'ottimo materiale di conservazione.

9.° *Prodotti.* — Colla coltura in brodo glucosato si mette in evidenza una tossina solubile; il filtrato di coltura di 96 ore, iniettato sotto-cute, alla dose di 3 cc. per cavia di 400-450 gr. di peso, provoca formazione di edema pastoso, più raramente fatti di necrosi della cute: l'animale si rimette abbastanza rapidamente. Per iniezione endovenosa, alla dose di 2 cc., l'animale muore nello spazio di qualche ora; il fatto principale consiste nella ipotermia.

La coltura centrifugata è dotata di proprietà presso a poco identiche. Il coniglio resiste a dosi molto alte anche per inoculazione endovenosa (8 cc. per Kg.).

La tossina è dotata di potere *emotossico* ed *emoagglutinante*; quest'ultimo però incostante e non uniforme.

10.^o *Riproduzione sperimentale.* — Le osservazioni furono condotte specialmente sulla *cavia*, in minor numero, sul *topo* di fogna e sul *coniglio*.

Cavia.

Materiale inoculato. Coltura in brodo di bue, al fegato; brodo di cavallo.

Sede Inguine sinistro.

Età della coltura . . Da 48-72 ore a tre mesi.

Dose Da $\frac{1}{10}$ ad $\frac{1}{4}$ di cc. per 100 gr. di peso.

Sopravvivenza Da 10 a 21 ore.

a) Via sottocutanea. — (Cavia 1-17).

Sintomatologia clinica. — L'inoculazione quasi costantemente è seguita da rialzo termico di 1 grado, che si mantiene per buona parte del periodo di sopravvivenza; più raramente si osserva lieve abbassamento come fatto iniziale (da 38°2 a 37°8 entro le prime due ore); al rialzo, nelle ultime ore soltanto di vita subentra abbassamento di grado abbastanza notevole (da 38°2 a 35°5).

Come fatti generali sono a segnalarsi: depressione, polipnea, fianchi incavati: il pelo è leggermente irto, ma soltanto negli stadi avanzati e non si osserva o è poco accentuato quell'atteggiamento altrove descritto, nel quale l'animale si presenta raggomitolato su sè stesso: inoltre, poco o punto accennato lo stato irritativo; l'animale non ha scosse, non fa salti e solo emette qualche breve grido, nella fase avanzata; la voce non è spiccatamente affievolita.

Localmente si osserva: tumefazione, talvolta oltremodo spiccata, e costituita da una voluminosa raccolta di gas: cute tesa, rosso-vinosa: raramente edematosa, in qualche punto e specialmente nella località di infissione dell'ago, una zona più scura, in parte disepitelizzata, dalla quale trasuda lievissima quantità di liquido rossiccio, limpido.

Autopsia. — Cute del ventre, specialmente delle zone basse e di una parte del torace, di colorito rosso-vinoso, non molto intenso, a tonalità degradante man mano che ci si allontana dalla regione inoculata: in corrispondenza di questa la cute è talvolta rosso-scura, carica.

Nel cellulare sotto-cutaneo, formazione di ampie tasche gassose; presenza di numerose bollicine a distanza, sui fianchi, al torace, alle ascelle; liquido ematico, commisto a gas, nelle parti basse della parete addominale.

Muscoli addominali. — Rosso-chiari, edematosi, quà e là leggermente rammolliti, più asciutti al torace; il tessuto muscolare è infiltrato di numerose bollicine di gas.

Nella cavità dell'addome. — Peritoneo parietale e viscerale fortemente iperemico: liquido rossiccio, quasi sempre limpido, in quantità talvolta molto considerevole; fegato ora slavato, giallognolo, ora congesto,

bluastro, non aereato: milza quasi costantemente rosso-scura, molle; reni congesti, capsule surrenali di colorito rosso carico: stomaco disteso, con pareti talvolta iperemiche, digiuno ed ileo congesti.

Nella sotto-sierosa e nel cellulare retroperitoneale, considerevole quantità di gas in fini bollicine.

Nel torace, polmoni con numerose zone rosso-scuri; raramente, zone di infiltrazione edemo-emorragica; nel cavo pleurico rara la presenza di liquido lievemente colorato.

Asse cerebro-spinale. — Congestione di grado non uniforme nel cervello e nel ponte.

Arti posteriori. — In qualche caso fu osservata estesa tumefazione enfisematica della radice della coscia corrispondente al lato iniettato; nella maggioranza delle osservazioni però l'insufflazione gassosa limitavasi al segmento dell'arto in tutta prossimità dell'inguine. Vene sotto-cutanee della regione inguino-crurale frequentemente trombizzate, con trombo eccezionalmente aereato. In profondità, fra i muscoli profondi e lo scheletro femorale, scarso gas e poco liquido siero-ematico.

Bacterioscopia. — Germe, talvolta in filamenti di notevole lunghezza, nel cellulare sotto-cutaneo; per lo più però, accoppiato ed isolato; non infrequentemente in catenelle: le spore mancano di consueto.

Nel liquido peritoneale ed alla superficie del fegato il germe ora si presenta isolato, a due, in lunghi elementi, ora, ma più raramente, in filamenti che quasi mai raggiungono dimensioni molto considerevoli: in qualche caso però, e specialmente nel peritoneo, si osservano lunghe catenelle ed anche filamenti bene pronunziati (fig. 8, pag. 529).

Nel rene, nella milza, nel polmone, nel cervello, nell'utero e nel feto il germe fu rintracciato costantemente e quasi sempre sotto aspetto di *bastoncino lungo, isolato, accoppiato o in catena*.

L'esame del sangue a striscio sortì spesso esito negativo; pure negativa la ricerca delle spore nei tessuti all'atto della autopsia, eseguita subito dopo la morte. Nei tessuti, mantenuti in termostato, la sporificazione si manifestò, ma non molto vivace, col tipo paraterminale.

L'aereazione dei tessuti, e specialmente del fegato (*organi schiumosi*) fu osservata in modo abbastanza rapido a 37°: nei tessuti e nei visceri così mantenuti in capsula sterile, il colorito normale perdurò di solito inalterato per parecchi giorni, senza tendenza alla deliquescenza od all'annerimento.

L'emocoltura e la coltura dal fegato, milza, rene riuscirono

costantemente positive e nella grande maggioranza dei casi, libere da inquinamenti.

b) Via endomuscolare. — Il quadro generale non differisce da quello sopra descritto.

Localmente, all'inguine cioè ed alla radice della coscia, si delinea ben presto una considerevole tumefazione dura, lievemente crepitante, che risale verso il fianco; la pelle conserva quasi inalterato il suo colorito.

Autopsia: nel cellulare sottocutaneo, liquido ematico, misto a brandelli di tessuto adiposo: la massa muscolare è bagnata da liquido costituito da sangue aggrumato e frustoli di tessuto muscolare: vene completamente trombizzate: al taglio il muscolo che delimita la escavazione presentasi edematoso, abbastanza consistente, con focolai emorragici, alternati a zone pallide, esangui.

A distanza da questo focolaio, i muscoli sono rosei o rossi, umidi, lievemente aereati; in un caso, fu dato osservare un *edema gelatinoso, pallido*, infiltrante la massa muscolare del fianco, con propagazione fino ai muscoli del torace corrispondente.

c) Via endovenosa. — La morte avviene nello spazio di 1-6 ore, con fenomeni dispnoici, brusco e forte rialzo termico, transitorio, seguito da ipotermia preagonica considerevole (32°).

All'autopsia: nei casi di morte molto rapida, i fatti a segnalarsi sono quelli consistenti in forte iperemia dei visceri addominali e dei polmoni: a carico del sistema cerebro-spinale, forte edema della base, con zone di intensa iperemia, segnatamente a livello del ponte e del midollo allungato.

Topo di fogna.

Tanto il quadro generale che quello locale ripetonó i caratteri di quelli notati per la cavia: a segnalarsi una maggiore frequenza di esiti positivi nel sangue del cuore sui preparati a striscio e la più spiccata tendenza alla formazione di filamenti nel peritoneo ed alla superficie del fegato.

Coniglio.

L'iniezione sotto-cutanea di 2 cc. per Kg. uccide l'animale in 20 ore circa.

L'animale nelle prime ore non pare risentirsi dell'iniezione;

verso la 10^a-12^a ora però resta abbattuto, lieve abbassamento termico, nessun fatto irritativo: la morte sopravviene calma.

All'autopsia notansi presso a poco i fatti riferiti nella cavia.

Pulcino.

L'iniezione sotto-cutanea è sopportata quasi sempre dall'animale senza apparenti fenomeni: l'iniezione endo-muscolare provoca la morte in 3-4 giorni. All'autopsia non si rinvergono fatti apprezzabili; la ricerca del germe nel sangue riesce molto indaginoso e quasi sempre risulta negativa; l'emocultura pure riesce spesso negativa; positiva invece la coltura dal fegato.

Cane.

Sopporta benissimo l'iniezione sottocutanea di 3 cc. di brodo-cultura di 36 ore (Kg. 6-7 di peso).

RIASSUNTO ED IDENTIFICAZIONE.

Germe anaerobio, mobile, sporigeno nei mezzi artificiali, modificamente saccarificante, non putrefacente, penetra con discreta facilità nel sangue; con proprietà enfisemizzanti ed edemizzanti spiccate; forma, ma non costantemente, filamenti nel peritoneo ed alla superficie del fegato, negli animali da esperimento e specialmente nella cavia e nel topo.

Per l'identificazione furono esperite le prove messe in opera nel gruppo precedente, coi seguenti risultati:

1°) *Prova dell'agglutinazione* col siero *antivibrione settico* (1×50): il germe è meno mobile, non è però agglutinato.

2°) *Prova della neutralizzazione* col siero antitossico *antivibrione settico*: risultato *positivo*.

3°) *Prova della neutralizzazione* col siero antitossico *anti-oedematiens*: risultato *negativo*.

4°) *Prova della neutralizzazione con siero anti-carbonchio sintomatico*: risultato *negativo*. La morte avvenne nello stesso tempo dell'animale controllo.

5.° Gruppo (N. 10 casi: Marzo 1916-Febbraio 1917).

Sede della ferita. — Arti inferiori, 6 volte; avambraccio, 1 volta; perineo, 1 volta; dorso, 2 volte.

Fatti anatomici prevalenti. — *Cute tesa, con mazzette bluastre, talvolta verde-scura per larga estensione, flittene*

nerastre; enfisema sottocutaneo e profondo considerevole, muscoli di colore verde malachite, talrola diffuenti; liquido scarso; odore di prosciutto rancido.

Prelevamento del sangue per emocultura e per prova biologica: fra la 28.^a e la 18.^a ora prima della morte.

Sopravvivenza dei feriti. — Da 2 a 7 giorni.

Le caviè, inoculate in peritoneo, morirono fra la 9^a e la 14^a ora, con reperto costantemente uniforme. Colle solite modalità tecniche, dal sangue del cuore, dal fegato, dal peritoneo e dal sottocutaneo furono allestite colture in brodo TAROZZI, in agar alto strato, in gelatina con pezzetti di fegato o di muscolo. Ottenni sviluppo anaerobico, quasi sempre puro, del germe rilevato nella emocultura, eseguita nel ferito.

I germi isolati in nove dei dieci casi di questo gruppo presentano caratteri morfologici uniformi e costanti, e così riassunti.

a) Colonia. — In agar: Colonia chiusa: centro granuloso, margini trasparenti, ma netti: talvolta un corto ciuffo in forma di protuberanza, si distacca da una delle estremità; qualche forma a cuore. Rottura rapida del mezzo, forte quantità di gas e di acqua di condensazione, odore leggermente nauseante o di prosciutto rancido. Caratteristico l'alone di diffusione attorno alle colonie, nel modo già descritto (fig. 7 pag. 435).

In gelatina. — Fluidificazione lenta, talvolta in 6-7 giorni, ma costante: colonie a margini alquanto meno netti; granulosi o finamente seghettati.

b) Germe. In agar. — Bastoncino diritto, in media largo da 0,8 a 1,2 μ , lungo da 3 a 6 μ : qualche forma è più tozza, altra è più larga e sottile; si presenta facilmente a due, con elementi riuniti ad angolo quasi retto, estremità lievemente arrotondate o subquadrate.

In brodo glucosato alcuni stipiti danno catenelle, ma non filamenti: forme filamentose lunghe, sottili possono trovarsi nelle colonie vecchie in agar.

Il germe è *immobile* e *capsulato*: abitualmente *asporigeno*: due stipiti sporificarono con una certa facilità nel liquido ascitico e nel sangue umano: le spore però anche per questi mancarono costantemente nei tessuti e nei liquidi patologici.

Le proprietà culturali e biochimiche possono così venire riassunte:

Latte. — Coagulazione ed acidificazione rapida, senza digestione della caseina; separazione di siero limpido nello spazio di 24 ore.

Siero coagulato di bue. — Nessuna o appena accennata fluidificazione per alcuni stipiti, meglio accennata, ma incompleta per altri.

Sangue umano. — Laccatura nerastra; la fluidificazione del sangue è rapida e completa in tutti gli stipiti esaminati.

Gelatina. — Fluidificata pressochè ugualmente da tutti gli stipiti.

Potere saccarificante. — Pronunciato ed uniforme per il *glucosio*, *maltosio*, *lattosio*, *saccarosio*, *arabinosio*; meno costante ed uniforme per l'*inulina* e la *glicerina* (mancante in due stipiti).

Proprietà patogene. — Costanti per la cavia, qualunque sia la via di inoculazione; si rivelano nel coniglio soltanto per via endovenosa ed in dosi piuttosto alte (da 2 a 3 cc. per Kg.).

Nella cavia, sia per iniezione sottocutanea che intramuscolare di coltura totale, la morte sopravviene in 18-30 ore (1 cc. per cavia di 500-600 gr.) col seguente quadro:

Addome tumido e fortemente timpanico, pelle verde-bluastro quasi mácerata, enfisema sottocutaneo e sotto-aponevrotico imponente: nel cellulare sottocutaneo liquido^r nerastro, ora fluido ora mucillaginoso; muscoli disfatti e diffuenti nelle vicinanze del punto di inoculazione; rammolliti a distanza, rosso-verdastri o lividi, crepitanti. Nel peritoneo, liquido ematico scuro, fegato per lo più slavato, milza nero-picea, talvolta diffuente, rosso-scuro, a chiazze livide: polmoni a zone iperemiche; talvolta liquido torbido-rossiccio nelle pleure e nel pericardio.

Alla superficie dei visceri addominali e nel liquido peritoneale, il germe si presenta in forma di bastoncino facilmente colorabile, con alone capsulare molto marcato, isolato, a due, talvolta in catenella, mai in filamenti. Nella iniezione endo-muscolare, questi fatti locali sono più pronunciati e se essa viene eseguita all'inguine o alla radice della coscia, non è raro trovare i muscoli della regione distrutti, assieme alle aponevrosi: nei punti più lontani, i muscoli, della parete addominale e della regione ileo-costale sono meglio conservati, ma dissociati dal gas, il quale determina la formazione di ampie sacche, nelle quali esso è commisto a liquido, talvolta filante.

Nel coniglio l'iniezione sotto-cutanea provoca edema molto superficiale ed enfisema sotto-cutaneo localizzato; la pelle prende un colore verde carico: il liquido di edema è spesso semi-gelatinoso. Questi fatti sono accompagnati frequentemente da diarrea che dura 4-6 giorni e l'animale finisce col ristabilirsi; dei fatti locali più non rimane alcuna traccia: in rari casi si osserva la morte a lunga scadenza (30-40 giorni).

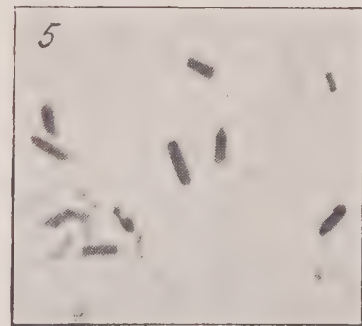
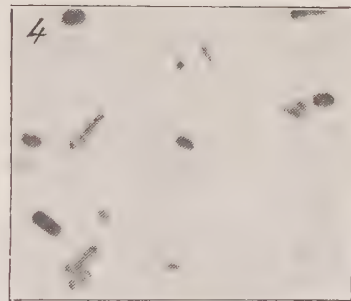
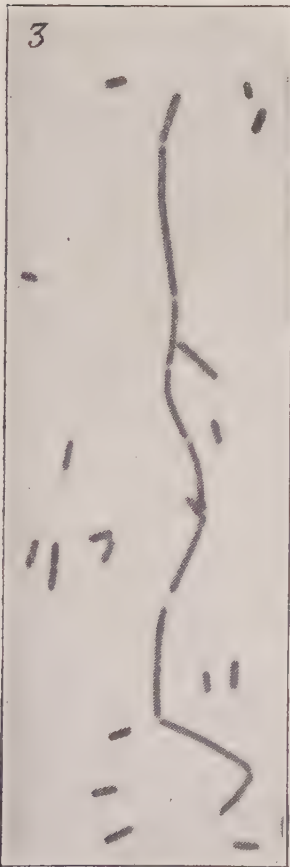
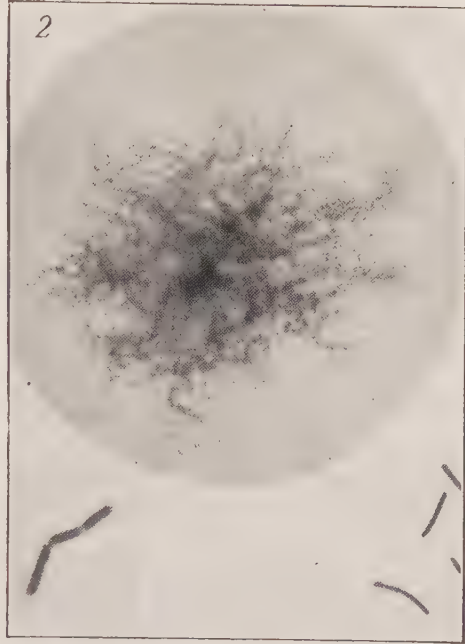
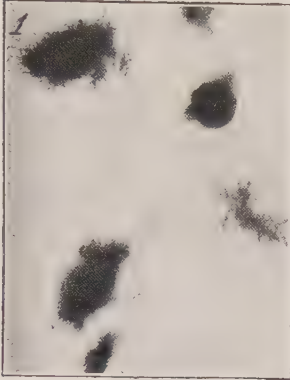
L'iniezione endovenosa, alla dose di 2-3 cc. per Kg., uccide l'animale in 7-11 ore: nella dose di 8-10 cc. provoca la morte rapida, talvolta nello spazio di pochi minuti.

Nella cavia il germe invade rapidamente il torrente circolatorio e si può rilevare talvolta con facilità nei preparati a striscio, fatti con sangue prelevato dal cuore; nel coniglio, iniettato in vena a dosi non rapidamente mortali, il germe si trova nel liquido peritoneale, e, meno facilmente, negli strisci di sangue.

La coltura di 36 ore in brodo glucosato al fegato o in brodo MARTIN, filtrata alla BERKEFELD o centrifugata lungamente (2 ore) iniettata alla dose di 2 cc. sotto cute alla cavia, provoca formazione di edema molle, localizzato, che ora scompare senza lasciare traccia, ora è seguito da necrosi della cute con formazione di escara umida; con dosi maggiori si ha diarrea, abbattimento, diminuzione di peso, e talora, nel termine di qualche giorno, la morte.

L'iniezione endovenosa alla dose di 2 cc. uccide quasi sempre l'animale in breve tempo (2-3 ore); in un caso all'autopsia osservasi urine sanguinose. Talvolta la morte è tardiva (12-16 ore).

Nel coniglio l'iniezione endovenosa a dosi alte (3-4 cc. per Kg.) provoca la morte nello spazio di qualche ora, con fenomeni analoghi a quelli notati



per la coltura *totale* (polipnea, contrazioni tonico-cloniche degli arti, tremori del capo, difficoltà a reggersi sulle gambe, rialzo termico transitorio, ipotermia). In dosi molto alte (8-10 cc. per Kg.) la morte può avvenire rapidissimamente: l'animale cade di lato, travolge gli occhi, respira affannoso, tenta sollevarsi per ricadere subito; paralisi degli sfinteri, specialmente di quello anale: qualche volta l'animale si rimette transitoriamente.

Il complesso dei fatti, in riassunto descritti, risultò presso a poco in modo uniforme dalle ricerche condotte sui nove stipiti isolati. Qualche variante appare manifesta specialmente nell'azione della coltura filtrata o centrifugata; e più particolarmente nella inoculazione sotto-cutanea, con tendenze ora enfisemizzanti, ora maggiormente edemizzanti, a seconda dello stipite adoperato.

Gli effetti della iniezione endovenosa nel coniglio sì della coltura *in toto* che di quella filtrata o centrifugata non furono costantemente uniformi per i vari stipiti; in due di essi ad es. fu specialmente accentuata l'azione *emo-lizzante*, sì *in vivo* che *in vitro*.

Nel loro insieme tuttavia i reperti sperimentali, per quanto riguarda sì gli effetti anatomo-patologici e clinici che le caratteristiche dei germi nei tessuti dell'animale, sono tali da consentirci di omologare i nove stipiti studiati in un unico gruppo.

Il complesso poi dei caratteri della colonia, della morfologia del germe, delle sue proprietà colturali e biochimiche offre altri elementi di appoggio, per autorizzarci a riportare i nove stipiti ad un gruppo unico, a quello del *B. perfringens*.

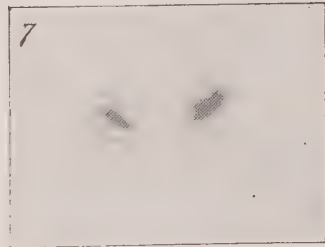
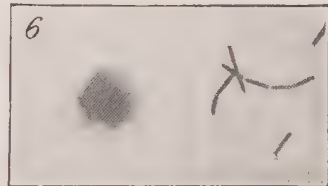
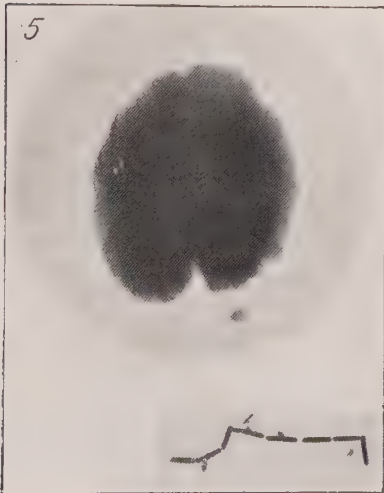
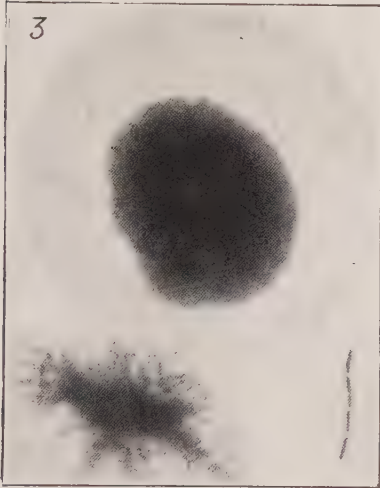
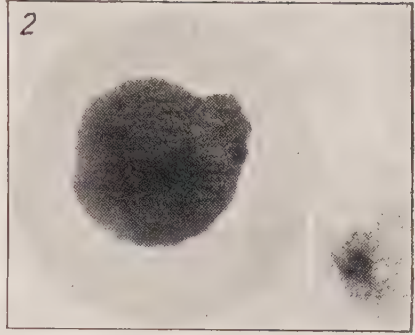
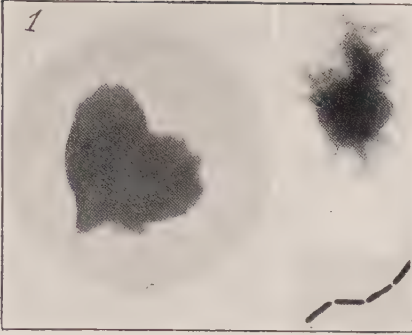
Sui nove campioni fu eseguita la prova della neutralizzazione mediante siero *anti-perfringens antitossico*, ottenuto dal coniglio, preparato all'uopo mediante iniezione sottocutanea di dosi progressive di coltura filtrata di 36 ore in brodo al fegato glucosato e in brodo MARTIN, di un campione di *B. perfringens*, fortemente attivo, fornitomi dall'Istituto Pasteur (campione L. 4 del Dr. Weinberg): tali prove furono ulteriormente proseguite con siero antitossico fornitomi dall'Istituto stesso, per cortesia del Dr. Weinberg: il siero si dimostrò fornito anche di proprietà antiinfettive rilevanti, ed i risultati furono i seguenti:

Le cavia, trattate con miscela, *coltura totale* in dose mortale + siero *antitossico*, sopravvissero tutte alla inoculazione sottocutanea ed intra-muscolare; come fatti generali ebbe a notarsi in tutte un notevole rialzo termico, fenomeni di abbattimento e, localmente, con frequenza la formazione di una zona edematosa, che scomparve nel giro di 3-4 giorni: qualche animale presentò diarrea.

Identici risultati si ottennero nel coniglio, inoculato in vena con miscela siero + dose ipermortale di coltura *in toto*.

Il germe isolato nel 10° caso, pur presentando caratteri in complesso strettamente affini a quelli del gruppo precedente, merita una speciale considerazione nel riguardo di alcuni punti.

a) *Colonia*. — Lo sviluppo in agar si può talvolta seguire fino dalle prime ore: se il mezzo è trasparente e non troppo spesso, si percepiscono numerosi finissimi cespuglietti, che possono venire equivocati con impurità dell'agar: (4-6 ore); ben presto però compare un nucleo centrale o lieve-



mente eccentrico, dal quale si dipartono prolungamenti sottili fini e non considerevolmente intrecciati: lo sviluppo delle colonie in questa guisa avviene per solito, nell'insemenzamento abbondante con brodo fresco (24-36 ore) abbastanza rapido (fig. 1, pag. 537).

Lo sviluppo è abbondante, con svolgimento notevole di gas e di acqua di condensazione; le coloniette possono svilupparsi anche al di fuori della 3^a piastra, ma sempre nella profondità. Coll'invecchiamento, se la 3^a piastra viene mantenuta in posto, le modificazioni delle colonie dopo le prime 24 ore non sono molto notevoli, talvolta però il nucleo centrale prende il sopravvento e dei prolungamenti periferici non rimane traccia che sotto aspetto di corte ramificazioni, non intrecciantisi: tal'altra invece, i prolungamenti rimangono immutati e la colonietta ritrae molto del carattere della colonia veramente aperta.

In via eccezionale, lo sviluppo della colonia può avvenire col carattere della vera colonia a batuffolo, come è rappresentato dalla fig. 2 della pagina 537.

La colonia in parola assieme ad altre nove dell'identico aspetto fa parte di una piastra allestita colla coltura in brodo glucosato da sangue del cuore di cavia, morta in 9 ore col quadro classico. Le dieci colonie avevano avuto uno sviluppo molto lento (72 ore); per converso raggiunsero dimensioni notevoli, apparendo ad occhio nudo sotto aspetto di colonia bianca, con centro appena marcato e lunghe diramazioni periferiche, poco o punto intrecciate. La colonia risultava costituita da bastoncini immobili, grossi, benissimo colorabili, non sporificati, (fig. 2, in basso, pag. 537).

La colonia 2^a venne trapiantata in brodo glucosato al fegato ed in 12 ore fornì uno sviluppo rigogliosissimo (gas, intorbidamento, muco). Col brodo di 24 ore fu allestita una piastra in agar, nella quale si svilupparono le coloniette semi aperte già descritte, costituite da germi a caratteri perfettamente identici a quelli della colonia madre.

La coltura, allestita colla colonia a batuffolo, fu lasciata invecchiare ed al 95° giorno fu trapiantata in agar, insemenzando largamente. Lo sviluppo, alquanto tardo, si affettuò sotto forma di colonie chiuse, a nucleo denso, talune con lieve pelurie periferica (fig. 1, 2, 3, 4 e 5, pag. 539).

Cinque esemplari di queste colonie (1, 2, 3, 4 e 5) furono trapiantate in altrettanti brodi glucosati; lo sviluppo fu caratteristico, nel modo già notato (gas, muco, intorbidamento ecc.). Con ogni singolo brodo di 24 ore, fu allestita una piastra in agar; le coloniette sviluppatesi ripeterono i caratteri delle coloniette semiaperte, talune con ricche diramazioni irradiantisi da un nucleo denso, opaco (fig. 1, 2, 3 e 4 in basso o di fianco; fig. 6, pag. 539). Il germe attraverso tutti questi passaggi conservò i suoi caratteri fondamentali (immobilità, facilissima colorabilità, mancanza di sporulazione). Nelle figure della pag. 539 è tracciata la successione dei fatti descritti.

A pagina 542 sono poi riprodotte le diverse gradazioni di colonie, ottenute in agar con brodo coltura di 25 giorni, da sangue del cuore di cavia. Come si vede, dalla colonia lenticolare, con fine e corta pelurie, si passa a colonie a doppio contorno o provviste di ramificazioni più marcate. La colonia 1 trapiantata in brodo glucosato fornì uno sviluppo eccezionalmente florido: nell'agar, allestito col brodo di 12 ore, apparvero coloniette, le quali

rapidamente, da tenuissimo cespuglietto, passarono alla forma ritratta dalle fig. 6, 7 ed 8 della pag. 542 e cioè di coloniette semi-chiuse, talora con fitte ramificazioni periferiche; la nucleizzazione di queste ultime colonie fu rapidissima e completa, tanto che alla 24^a ora esse avevano aspetto di vera colonia chiusa.

Analogamente: con liquido sottocutaneo di cavia (A⁴) furono allestite piatte in agar, nelle quali si ebbe uniforme sviluppo di colonie chiuse, a centro denso, marcato, contorno granuloso (fig. 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13 pag. 542): il germe di tali colonie presentava tutti i caratteri più spiccati già descritti. Trapiantata la colonia 4^a in brodo glucosato, ottennesi sviluppo tipico (gas, intorbidamento, muco); nelle piatte allestite col brodo di coltura di 20 ore si ottennero soltanto coloniette semi aperte, corrispondenti alla fig. 14, pag. 542. Il germe di queste coloniette, in agar di 36 ore, presentavasi alquanto meno colorabile e leggermente più piccolo che non quello delle colonie precedenti. Dal brodo, allestito con una di tale coloniette, semi aperte, si ottenne una piastra contenente soltanto colonie con centro denso-opaco e contorno granuloso (fig. 15, pag. 542).

Attraverso a tutti questi passaggi ebbesi quindi una nuova conferma dei fatti inizialmente verificatisi e cioè della possibilità di un pleomorfismo accentuato della colonia.

b) **Germe.** — 1.^o *Forma e dimensioni.* — In agar di 24-48 ore: bastoncino diritto, isolato, a due, in catenelle di 3-4 individui, con estremità leggermente arrotondate, uniformemente e facilmente colorabile, senza vacuolizzazioni, con alone capsulare evidente, non sporulato. Nelle colonie vecchie di 12-14 giorni, il germe conserva pressochè immutati questi caratteri, tra i quali, uno dei più spiccati, quello della facilità ed uniformità di colorazione.

Soltanto nelle colonie molto vecchie (20-25 giorni) il germe può perdere alquanto della sua uniformità di colorazione, ma eccezionalmente si presenta vacuolizzato o con aree protoplasmatiche incolori. Le dimensioni del germe sono: larghezza da 0,90 a 1 μ .; lunghezza da 3,6 a 7,2 μ .

In brodo al fegato non glucosato il germe si presenta alquanto più lungo e più spesso che in agar, talvolta in lunga catena, con articoli ben distinti che si guardano per mezzo di estremità leggerissimamente arrotondante (fig. 3, pag. 537) e quasi sub-quadrate.

In brodo al fegato glucosato la forma e le dimensioni sono quelle precedenti.

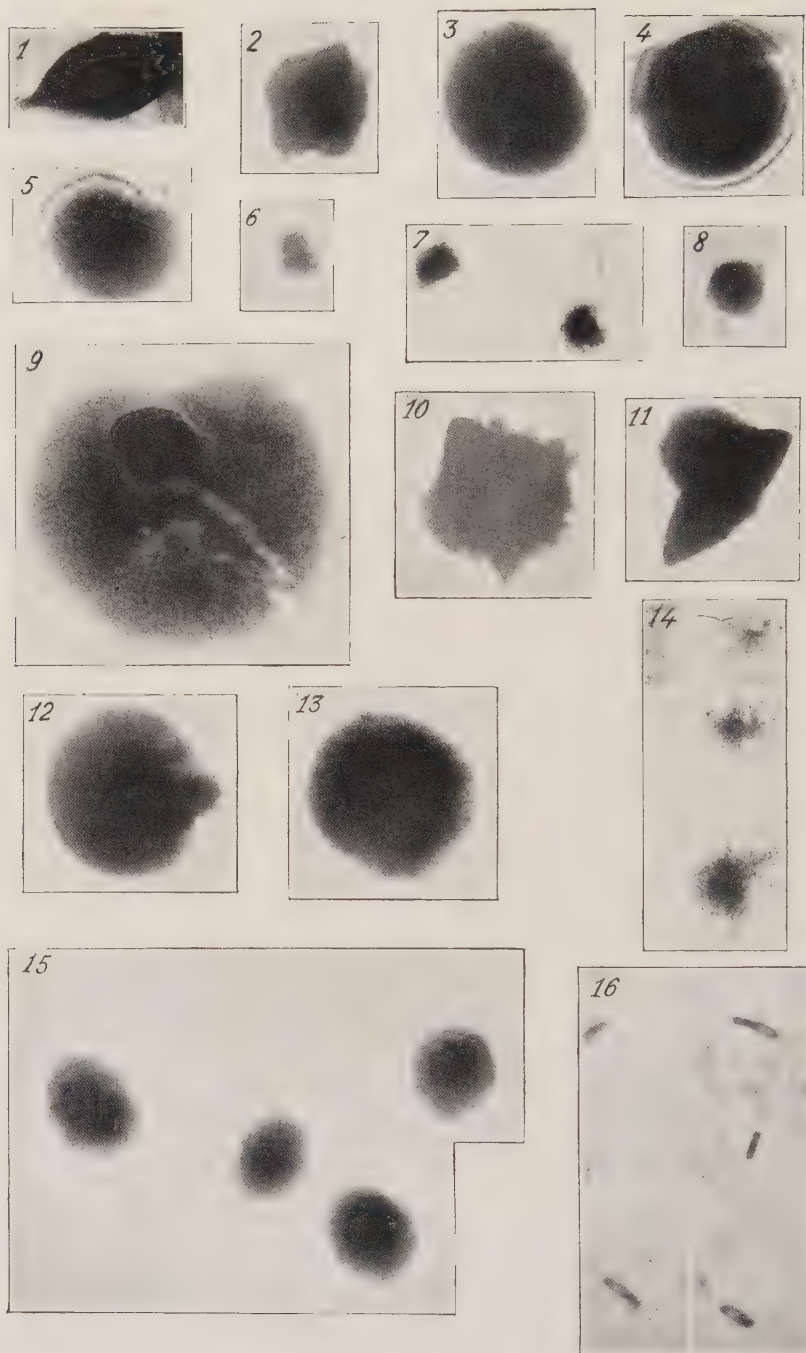
2.^o *Colorazione.* — Facilissima coi comuni mezzi; preferibilmente colla fuxina basica e collo Ziehl; il germe è Gram-resistente anche nelle colture vecchie.

3.^o *Mobilità e ciglia.* — Si nei liquidi patologici che nei terreni di coltura non appare dotato di movimenti attivi. L'esame in goccia pendente, eseguito sul liquido peritoneale dell'animale appena morto, ha lasciato talvolta incerti sull'esistenza o meno di lievissimi movimenti; si è dovuto però concludere per l'esistenza di movimenti trasmessi, anzichè di movimenti attivi.

La dimostrazione della ciglia riuscì costantemente negativa.

4.^o *Capsula.* — Facile a mettersi in evidenza (fig. 7, pag. 539) ⁽¹⁾.

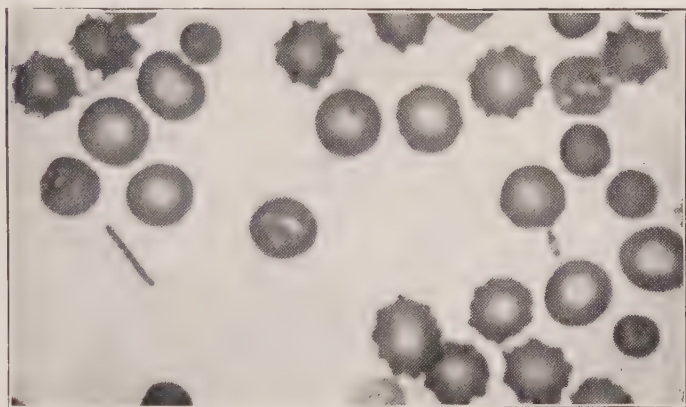
(¹) Nella figura 7 fu ritoccato, nel processo zincografico, a nostra insaputa, il contorno capsulare.



5.° *Spore*. — Il germe abitualmente non è sporigeno; tuttavia la sporulazione si può talvolta osservare ad es. nel sangue umano e nel liquido ascitico: la spora, prevalentemente paraterminale, è oblunga, leggermente rigonfia, ad estremità appuntite, lunga μ . 2.2-5, larga μ . 1.4-1.6. In un caso fu da noi ossevata nel sottocutaneo e nel liquido peritoneale di una cavia, inoculata con brodo di coltura vecchia e sopravvissuta 50 ore (fig. 16, pag. 542).

In questo animale, all'autopsia esisteva considerevolissima quantità di liquido muco-emorragico tanto nel cellulare sotto-cutaneo, come nel peritoneo; cute dell'addome verdastra, muscoli in isfacelo. Le spore, numerosissime, presentavansi libere e paraterminali, raramente centrali (fig. 16, pag. 542).

Col liquido sotto-cutaneo di questo animale furono allestite colture in brodo ed in agar, dalle quali risultò uno sviluppo puro del germe, coi caratteri già menzionati.



Questo fatto richiamò alla nostra considerazione una osservazione isolata fatta in precedenza, sulla cui interpretazione restammo dubbiosi. Nello striscio di sangue di una cavia, inoculata sotto cute con sedimento di brodo-coltura, ottenuta da sangue del cuore di cavia (8.^a), colpì la presenza di una spora col tipo paraterminale; questo reperto rimase però isolato e fu richiamato dalla constatazione sopra menzionata; la figura qui sopra si riferisce appunto al reperto in parola (striscio di sangue di cavia 17.^a, iniettata con sedimento batterico e morta dopo 4 ore).

6.° *Caratteri culturali*. — Brodo al fegato non glucosato. — Sviluppo quasi sempre rapido (12-16 ore), con intorbidamento abbondante ed uniforme; il brodo prende una tinta leggermente verdognola ed esala un odore alquanto nauseante, ma non fetido; il frammento di fegato non viene annerito, il liquido assume una consistenza mucillaginosa, talvolta molto marcata.

La sedimentazione è molto lenta ed il liquido soprastante impiega parecchio tempo a chiarificarsi. Il gas è abbondante; l'acidificazione, marcata. Nessuna sporulazione.

Brodo al fegato glucosato. — Intorbidamento e sviluppo di gas abbondantissimo; il brodo prende talvolta l'aspetto di una poltiglia verda-

stra, con odore intenso di formaggio rancido ed anche di sostanza organica in fermentazione: il frammento di fegato, spesso aereato e galleggiante sulla superficie del liquido, conserva il suo colorito giallognolo normale: al fondo della provetta si può avere anche un lieve deposito polverulento, nerastro: il liquido ha una consistenza mucillaginosa, che va diminuendo col-l'invecchiare della coltura.

Brodo al fegato con cubetto di bianco d'uovo. — Il bianco d'uovo non subisce modificazioni importanti; dalla coltura emana odore leggermente sgradevole di H_2S .

Latte. — Coagulazione rapida, retrazione e formazione di coagulo a spugna, separazione di liquido limpido, acidificazione, gas in discreta quantità, nessuna digestione della caseina, sviluppo rigoglioso del germe, spesso in catenella.

Latte al tornasole. — Decolorazione ed arrossamento intenso.

Bile di bue. — Sviluppo scarso, il germe si dispone talvolta in catenelle: acidificazione.

Liquido di Zacherl. — Vira in rosa nello sviluppo di 24 ore: decolorazione successiva.

Pappa di cervello. — Nessun ammerimento: acidificazione; elementi isolati, a due, raramente in breve catenelle:

Brodo con muscolo umano. — Sviluppo rigoglioso, con molto gas, intorbidamento; rigonfiamento e rammollimento del tessuto.

Brodo con muscolo di bue. — Caratteri analoghi ai precedenti.

Sangue umano. — Coagulazione senza sierare; dissolvimento lento del coagulo, laccatura, odore sgradevole, ma non putrido. Sviluppo del germe talvolta in corta catenella: sporulazione.

Gelatina. — Fluidificazione lenta, ma totale, sviluppo mediocre.

Siero di bue coagulato. — Sviluppo scarso, il siero viene attaccato soltanto molto tardi ed incompletamente peptonificato: acidificazione.

Liquido ascitico coagulato. — Sviluppo stentato; il germe è piccolo, isolato o a due; si può osservare la formazione di spore.

7.° *Potere saccarificante.* — Il germe fermenta *glucosio, levulosio, lattosio, galattosio, inulina, arabinosio, glicerina*; sviluppo di acido carbonico e di acido lattico.

8.° *Resistenza.* — a) *Riscaldamento.* — A 80° per 15' il germe non subisce alcuna attenuazione.

Nei terreni liquidi il germe conserva anche per parecchi mesi la sua vitalità e virulenza: il sangue umano rappresenta un ottimo mezzo di conservazione.

b) *Antisettici.* — In brodo fenicato al 0,50% lo sviluppo è stentato, senza muco, scarso intorbidamento; talvolta forme filamentose. Nel brodo fenicato all'1% lo sviluppo non è del tutto arrestato.

9.° *Riproduzione sperimentale.* — *Cavia.* — L'iniezione sottocutanea all'inguine di brodo coltura di 36-40 ore uccide l'animale, alla dose di $\frac{3}{4}$ di cc. per 450-400 gr. di peso, nello spazio di 3-9 oore.

L'*ipotermia* è il fatto iniziale prevalente, che spesso costituisce, assieme a fenomeni di grave astenia, l'intero quadro clinico.

Nei casi ad esito letale non molto rapido, alla iniezione può tener dietro un rialzo termico di grado mediocre, al quale succede ben tosto ipotermia marcata (figure della pagina 545 e 546). Notevole in tutti i casi la lunghezza del periodo ipotermico, che bene spesso occupa la metà o i due terzi del periodo totale di sopravvivenza.

Le gravi condizioni dell'animale sono, di solito, delineate già nella prima ora, nei casi di esito mortale rapido; corpo afflosciato, cadente, fianchi inca-vati, pelo leggermente arruffato, respiro frequente; messo sul dorso o su di un lato, l'animale vi resta, il più delle volte senza tentare di cambiare posizione, qualche grido rauco è l'unica manifestazione, quando l'animale viene afferrato anche con dolcezza.

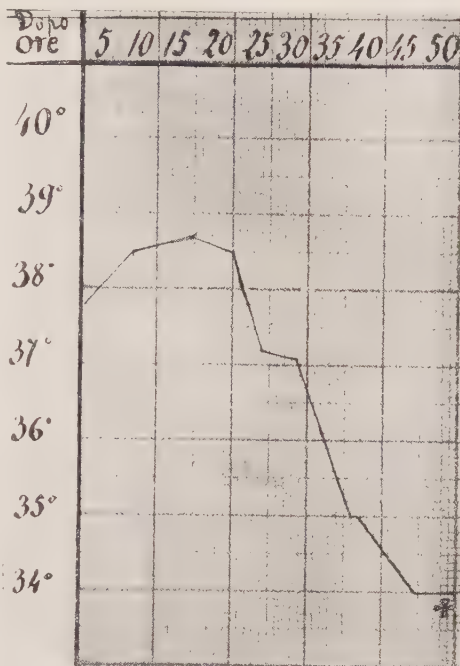
I fatti di astenia ben spesso si accentuano, l'animale rimane accasciato sugli arti posteriori, appoggiato contro la parete della gabbia¹, emettendo ogni tanto qualche fioco lamento; per lo più rifiuta il cibo; la respirazione diventa affannosa, talvolta intercisa, dalla bocca semiaperta cola liquido alimentare, che negli ultimi momenti può essere misto anche a sangue.

La morte può sopravvenire preceduta da un breve periodo di scosse agli arti posteriori: per solito è calma.

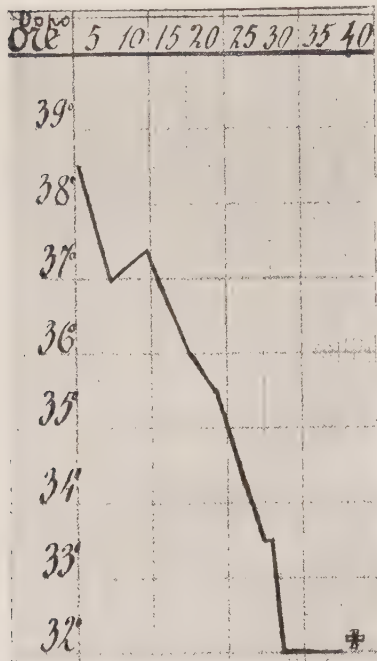
Localmente, in corrispondenza della parte iniettata, si ha rapida formazione di una bozza variamente rilevata, timpanica, con suono di scatola, cute rosso-scura, asfittica; il colore della cute, se il periodo di sopravvivenza è di maggiore durata, diventa verdastro o verde-scuro e nel punto maggiormente prominente la pelle si rompe. Di solito però il decorso è tanto rapido che tale fatto non ha tempo di verificarsi.

Nelle regioni circostanti, i tessuti della radice della coscia e del quadrante addominale inferiore del lato opposto sono edematosi, rosso-cupi, in qualche caso, lievemente crepitanti; più a distanza ancora, la cute è di colorito alquanto più carico del normale; segni di enfisema sottocutaneo si possono avvertire talvolta fino alle ascelle.

All' *autopsia*: cute dell'addome rosso-scura, con aree livide, verdastra per larga estensione. Nei casi a sopravvivenza protratta, nel cellulare sottocutaneo forte quantità di liquido emorragico spesso gelatinoso e gas, aponeurosi e muscoli, della regione inoculata, di colore verdastro, parzialmente digeriti: a distanza, il gas scolla per ampi tratti i muscoli dalle aponevrosi: il tessuto



muscolare molle, quasi diffuente, infiltrato di numerose bollicine gassose, è di colorito rosso mattone sporco, alternato ad aree verdastre, livide. In parecchi casi, incisa la cute in corrispondenza della bozza del sito d'inoculazione, appaiono a nudo le anse intestinali, costituite da buona parte del



tenue, da un tratto del crasso, fuoriusciti attraverso un occhiello della parete addominale del diametro di una moneta da cinque centesimi. Il fatto si andò ripetendo con frequenza: nella figura della pag. 547 è appunto riprodotta la lesione della parete addominale in una cavia iniettata sotto-cute e morta dopo 26 ore: in *A* scorgesi la soluzione di continuo interessante lo stato muscolo-aponevrotico: in *B* fa procidenza l'intestino crasso attraverso una ampia breccia a tutto spessore della parete addominale.

Nel peritoneo. — Varia quantità di liquido, ora scarsamente colorato, ora rosso-scuro, bene spesso filante, quasi mucillaginoso.

Sierosa parietale. — Rosso-scura, specialmente nella parte bassa dell'addome: sierosa viscerale incostantemente iniettata; fegato ora scuro, congesto, a chiazze giallastre, ora slavato; milza talvolta di colorito piceo, rene congesto ed a zone livide, capsule surrenali ora inmodificate nel colorito, ora alquanto iperemiche; stomaco ed

intestino quasi sempre sovradistesi da gas: lo stomaco in qualche caso è nerastro, con suffusione ematica verde scura, sotto-sierosa ed intra-parietale; zone emorragiche sottomucose.

Nel pericardio e nelle pleure, costante presenza di liquido rosso od incolore.

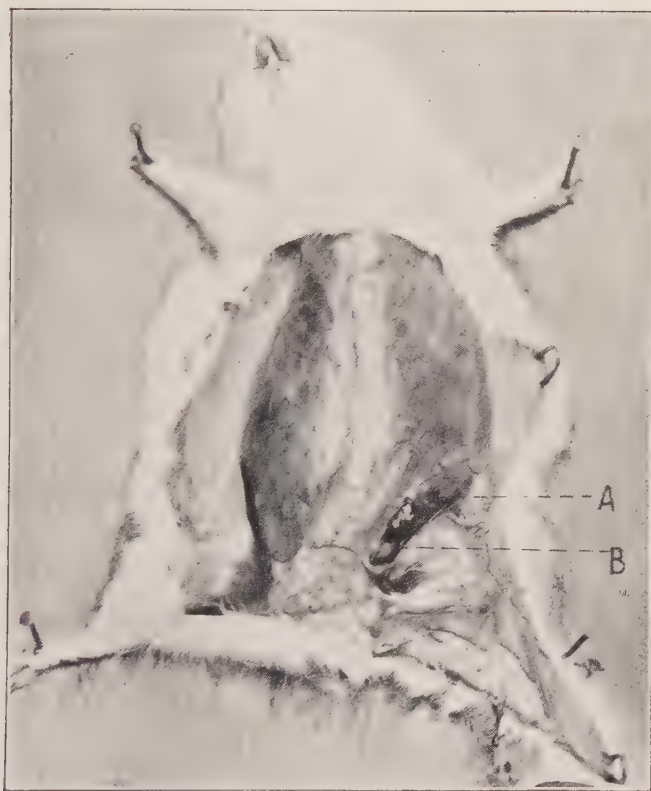
Asse cerebro-spinale. — Cospicua replezione delle vene della dura, liquido talvolta commisto a bollicine di gas nel cavo meningeo; corteccia cerebrale e ponte intensamente iperemici: al taglio, edema talvolta notevole della base; ventricoli laterali distesi da liquido.

Arti posteriori. — Alla radice dell'arto, in prossimità del punto di inoculazione, notasi: enfisema sottocutaneo, sottoaponevrotico ed intramuscolare; muscoli edematosi, con aree di rammolimento; le piccole vene, spesso trombizzate, contengono talvolta sangue fluido, con aspetto laccato.

Dopo morte i tessuti, raccolti sterilmente, diventano rapidamente verde-scuri e liberano forte quantità di liquido nerastro, costituito per massima parte da sangue alterato.

L'iniezione endo-muscolare provoca un quadro clinico generale presso a poco uguale a quello descritto per l'iniezione sottocutanea; i sintomi di

irritazione, sotto forma di scosse agli arti posteriori e specialmente all'arto corrispondente alla parte iniettata, sono aquanto meglio delineati: a questo periodo sempre di breve durata, subentra uno stato di depressione, specialmente caratterizzato dall'atteggiamento dell'animale, che resta accasciato, presso che immobile ed emette qualche grido a voce fioca. Respirazione prima solo frequente, poi affannosa; pelo leggermente arruffato sul dorso rapida ipotermia.



All' *autopsia*: fatti pronunciatissimi di digestione dei muscoli della radice della coscia, corrispondente al lato iniettato e quasi sempre distruzione di una estesa zona siero-muscolo-aponevrotica della regione addominale, in modo che le anse intestinali vengono a trovarsi, come si disse, sotto la cute.

Vengono qui ripetuti, più costanti ed accentuati, i fatti di miolisi descritti per i casi di iniezione sottocutanea. In una delle osservazioni fu costante anche un imponente edema gelatinoso, scuro, interessante la regione dei fianchi sì del lato omologo che di quello opposto alla parte iniettata; abitualmente però, tanto i muscoli in disfaccimento come quelli meglio conservati, nuotano in un liquido ematico, scuro, talvolta piceo, spesso denso e filante.

Dai tessuti emana un odore nauseante, forte, ma non putrido.

Determinando abrasioni multiple, abbastanza profonde ed estese della cute e poi cospargendo la superficie, così lesa, con materiale altamente virulento (liquido peritoneale di cavia, ricco di germi), l'animale non risente alcun disturbo.

Nel **riccio** le cose si svolgono presso a poco come nella cavia.

In questo animale, iniettato in uno degli arti anteriori con coltura di 24 ore alla dose di 1 cc. per 460 gr. di peso, sia per via sottocutanea che endomuscolare, la morte avviene entro le 9-12 ore; l'animale, già dopo un paio d'ore, non sta più avvolto su sè stesso, nella abituale posizione di difesa, ma mostra parte della testa e degli arti.

La morte avviene senza fenomeni speciali esattamente controllabili. Alla *autopsia* si trova: localmente arto notevolmente aumentato in volume; cute rosso-scura, muscoli lievemente aereati, non digeriti, rosso-vinosi. Liquido ematico, nerastro, trovasi in varia quantità nel tessuto cellulare e tra i fasci muscolari.

Nel **pulecino** l'iniezione sottocutanea riesce mortale alla dose di $\frac{1}{10}$ di cc. per 100 gr. di peso, in 24-30 ore.

I fatti locali consistono specialmente in colorazione verdastra della cute, talvolta anche per estensione notevole ed in infiltrazione gassosa marcatisima: meno accentuati i fatti di miolisi, anche nella iniezione endo-muscolare.

Nel **coniglio** l'iniezione sotto-cutanea di coltura in brodo di 72 ore, alla dose di 2-3 cc. per Kg. di peso, provoca lieve rialzo termico, edema gelatinoso, incolore, superficiale, formazione di una vescicola che, rompendosi, dà luogo ad una soluzione di continuo, la quale guarisce sotto crosta: inoltre, diarrea, rifiuto al cibo, dimagrimento: l'animale poco a poco si rimette. Identici risultati si hanno nella inoculazione di liquido peritoneale fresco di cavia, iniettata come sopra si è detto e venuta a morte col quadro caratteristico.

L'iniezione endovenosa della coltura precedente, alla dose di 2 cc. per Kg. uccide l'animale in 7-8 ore. Subito dopo l'infezione, l'animale è preso da tremori, travolge gli occhi, cade sul fianco: questi fenomeni hanno carattere transitorio: la temperatura nello spazio di 2 ore discende di circa un grado,

Nelle ore successive l'animale è abbattuto, sfiancato, respira superficialmente, rifiuta il cibo, la temperatura continua ad abbassarsi. La morte avviene per lo più con fenomeni convulsivi di lieve entità.

All'*autopsia*: Addome fortemente teso, timpanico: cute del ventre e di buona parte del torace, verde; epidermide esfolgiata per tratti di 4-5 millimetri: derma esangue, livido.

Nel cellulare sottocutaneo qualche bolla di gas: muscoli dell'addome violacei o verdi scuri, scarsamente o per nulla aereati.

Nel peritoneo: Scarso liquido sanguinolento; fegato slavato, leggermente crepitante (caso di autopsia non immediata): milza nero-picea, diffluente, reni scuri, capsule surrenali pallide, parete gastrica rammollita, verdebluastro; pancreas scuro; polmoni con zone epatizzate. Dall'animale esala odore ripugnante, ma non fetido.

I tessuti degli animali venuti a morte e specialmente i visceri dell'addome, lasciati a temperatura ambiente, in capsule di vetro sterili, diventano, come si disse, rapidamente nero-picei, con formazione di molto liquame scuro, di odore particolarmente forte; con notevole rapidità, fegato, milza e reni

si dissolvono, con formazione di una poltiglia verde-nerastra di odore sgradevole, non fetida; notevole formazione di gas.

Il cane, iniettato per via sottocutanea con brodo coltura di 2-3 giorni alla dose di 1 cc. per Kg. non presenta fenomeni generali gravi; il liquido peritoneale di cavia, morta col tipico quadro sopra ricordato, alla dose di $\frac{1}{10}$ di cc. per Kg. provoca transitorio malessere: talvolta si ha diarrea. Localmente, si può osservare, ma non costantemente, la formazione di una zona edematosa circoscritta, succulenta, molle.

10.° *Prodotti*. — 1.° Emotossina. — Le proprietà emotossiche del germe sono testimoniate *in vivo* dalla notevole perdita di emoglobina per parte dei globuli rossi, dalla colorazione verdastra o verde-picea dei tessuti, dallo annerimento dei visceri *post-mortem*, dalla distruzione globulare (gl. rossi dà 4.300.000 a 2.500.000 - Coniglio N. 2); *in vitro* dalla laccatura nerastra del sangue umano, dall'azione emolizzante sui globuli rossi di uomo, cavia e coniglio.

2.° Tossina solubile. — L'iniezione sottocutanea di brodo-coltura di 26 ore, filtrata alla Berkefeld, provoca, nella cavia, edema localizzato e talvolta gangrena della cute, con formazione di escara umida: l'iniezione endo-peritoneale di piccole dosi ($\frac{1}{10}$ cc. per cavia di gr. 350) ora è sopportata, ora provoca la morte dell'animale, a lunga scadenza (cavia 11^a-23 gennaio - 1° febbraio): l'iniezione endovenosa alla dose di 1 cc. per 400 gr. di peso, uccide lentamente l'animale in 18-20 ore; con fenomeni di abbattimento e polipnea. All'*autopsia*, visceri addominali un po' congesti, scuri: nel peritoneo, scarso liquido albuminoso.

Il coniglio è pure sensibile alla iniezione endovenosa di coltura filtrata; la morte sopravviene in 12-14 ore, dietro iniezione di 4 cc. per Kg.: in dose più bassa, l'animale può sopravvivere o venire a morte tardivamente: in un'osservazione di quest'ultimo genere, nel sottocutaneo, fortissima quantità di liquido chiaro, discretamente scorrevole, fortemente albuminoso e provvisto di numerosi globuli bianchi, polinucleati.

Le colture anerobiche ed aerobiche, allestite con questo liquido, risultano sterili; nessun effetto sortirono le iniezioni sottocutanee nella cavia.

Il filtrato colturale, riscaldato a 65° per 30', conserva buona parte della sua azione: a 75° le sue proprietà sono considerevolmente attenuate, ma non del tutto distrutte.

La coltura in brodo glucosato, centrifugata per 2 ore (3000 giri), decantata e poi nuovamente centrifugata per 15', manifesta azione tossica, analoga alla coltura filtrata. Dobbiamo far notare però che la sua sterilità non risultò mai assoluta al controllo colturale; donde la difficoltà di interpretare i casi a morte tardiva.

11.° *Reazioni immunitarie*. — 1.° Agglutinina. — Qualche tentativo, fatto sul coniglio, mediante iniezione di sedimento batterico, lavato, di coltura in brodo e con liquido peritoneale di cavia, condusse a risultati non del tutto disprezzabili: il siero, ottenuto dopo lunga preparazione dell'animale (da 6 ad 8 mesi), si dimostrò fornito di proprietà agglutinanti discrete (1×150).

2.° Antitossina. — In grossi conigli furono iniettate per via sottocutanea dosi progressivamente crescenti di brodo-coltura filtrata, di buon

potere tossico; il periodo di preparazione durò da 4 a 7 mesi: la quantità inoculata variò da un minimo di 2 ad un massimo di 5 cc. per Kg.

Questo siero risultò provvisto di buon potere immunizzante per la cavia inoculata in vena colla tossina; la miscela antisiero-brodo filtrato veniva, prima dell'uso, mantenuta 1 ora in termostato.

Il cane è stato da me utilizzato, sottoponendolo ad iniezioni sottocutanee di brodo-coltura in toto.

Uno di questi animali, in periodo di preparazione avanzata (3 mesi) venne a morte in profonda cachessia, con un reperto interessante, specialmente per la presenza di noduli polmonari.

RIASSUNTO ED IDENTIFICAZIONE

Germe anaerobio immobile; Gram-resistente, abitualmente non sporigeno, saccarolitico efficace, lievemente proteolitico, a chemismo non putrido, fondente la gelatina; altamente patogeno, provoca con frequenza fatti imponenti di miolisi, che, nella cavia, possono giungere fino alla distruzione in toto di zone della parete addominale; è inoltre enfisemizzante e potente emolizzante; i visceri dopo morte diventano rapidamente schiumosi.

Cavia, topo, riccio, pulcino sono animali ricettivi; più resistente il coniglio, sensibilissimo però alla iniezione endovenosa di coltura in toto.

Il cane non è del tutto refrattario.

Per l'identificazione si ricorse alla prova della neutralizzazione: col siero-*antiperfringens* + coltura di brodo glucosato.

Le caviae, inoculate con miscela: dose mortale di coltura + siero (da $\frac{1}{10}$ a $\frac{1}{20}$ di cc.), sopravvissero, pur presentando talvolta fenomeni di qualche rilievo (ipertermia seguita da ipotermia, disturbi respiratori, diarrea); i controlli morirono tutti in poche ore.

b) Flora mista.

In due delle 27 emocolture positive assieme ad un germe anaerobio fu isolato 1 volta un streptococco a lunga catena; 1 volta un cocco coi caratteri dello *stafilococco*.

Il germe anaerobio isolato in ambedue i casi presentava i caratteri del *perfringens*.

All'autopsia del 1° ferito si rinvenne una raccolta purulenta nei bacinetti del rene sinistro.

II. Infezioni con associazioni putride.

I cinque casi nei quali l'emocoltura riuscì positiva, si riferiscono a quattro feriti e ad una giovine donna, con gangrena del braccio destro, per interruzione del circolo sanguigno, a seguito di apparecchio gessato.

1.° Gruppo (N. 3 casi: agosto-ottobre 1917).

Sede della ferita. — Avambraccio sinistro, 1 volta; gamba destra, 1 volta; ginocchio sinistro, 1 volta.

In tutti tre i casi le ferite delle parti molli eran accompagnate da lesioni ossee imponenti (fratture comminute). Furono eseguite: una amputazione della coscia al 3° medio ed una al 3° inferiore; nella ferita all'avambraccio fu messo in opera un adeguato, energico trattamento conservativo, che permise di dimettere il ferito al 19° giorno in condizione di avanzata guarigione.

Quadro locale. — *Cute nerastra, a chiazze qua e là in isfacelo; odore fetido. Nel sottocutaneo, tra i ventri muscolari e fra scheletro e muscoli, presenza di gas, aponevrosi e setti intermuscolari nerastri, sfibrillati, rammolliti; liquido sanioso, fetido.*

Prelevamento del sangue peremocoltura: fra la 26^a e la 38^a ora dopo la ferita. Nel brodo Tarozzi si ha sviluppo, in tutti e tre i casi, di un germe coi caratteri seguenti:

a) **Colonia.** — In agar. — Sviluppo anaerobio abbastanza stretto; forma di lieve quantità di gas, quasi nessuna di acqua; odore leggermente fetido. Nucleo centrale piuttosto denso, granuloso, dal quale si irragiano corti filamenti; raramente questi si uniscono alla periferia in modo da formare dei cespuglietti (fig. 3, pag. 553); con frequenza i filamenti, invece che trovarsi su tutta la periferia del nucleo, stanno ad uno dei poli (fig. 2, pag. 553); la fig. 2 della pag. 553 ritrae però la forma più frequente.

La colonia nasce sotto forma di un tenue cespuglietto, con nucleo centrale alquanto più denso, ma trasparente; gradualmente il centro si addensa fino a che appare sotto aspetto di nucleo compatto, con ramificazioni, ora circonferenziali, ora polari. Abbastanza frequente la forma a granata (fig. 5, pag. 553).

In gelatina la colonia è meno densa, granulosa; la gelatina viene rapidamente fluidificata.

b) **Germe.** — 1.° *Forma e dimensioni.* — In agar; bastoncino diritto, lungo μ . 2.50-5, largo 0.60-0.70 μ , ben colorabile, facilmente sporulante, col tipo paraterminale; la sporulazione si può osservare già nelle colonie di 24 ore (fig. 1 e 2 in basso, pag. 553); non molto raro, qualche corto filamento.

Nel brodo glucosato il germe si presenta sotto aspetto di bastoncino diritto, alquanto più lungo che in agar ($3.60-8.50 \mu \times 0.70-0.85$).

Nel latte il germe è con una certa frequenza in lungo filamento (fig. 13 pag. 553).

2.° *Colorabilità*. — *Gram*-negativo; colorazione facile colla fuxina basica; il corpo bacillare e le spore restano uniformemente ed intensamente colorati.

3.° *Sporificazione*. — Facile nel brodo, nell'agar, discreta nel cervello e nel siero di bue; manca o è scarsissima nella bile di bue; nel latte è pure stentata.

Le spore, oblunghe, non rigonfie, sono esclusivamente paraterminali (fig. 14, pag. 553).

4.° *Mobilità*. — *Ciglia*. — Il germe è vivacemente mobile, con movimenti di traslazione ed ondulatori.

Le ciglia, a tipo peritrico, sono in numero di 10-12.

5.° *Resistenza*. — La spora resiste a 100° per qualche minuto; all'essiccamento, la resistenza è pressochè indefinita.

6.° *Caratteri culturali*. — Brodo non glucosato. — Nelle 48 ore intorbidamento uniforme, senza cambiamento di colore; il frammento non viene annerito; la produzione di gas è scarsa. Odore leggermente fetido.

Brodo glucosato. — Sviluppo presso a poco analogo al precedente; l'intorbidamento è alquanto più tenue; la sedimentazione avviene lentamente; il liquido soprastante non è mai limpidissimo.

Sangue umano. — Dopo 48 ore il sangue rimane coagulato, con separazione di siero abbondante. Al 3° giorno si inizia un leggero dissolvimento ed il sangue prende l'aspetto laccato; il dissolvimento però non è molto pronunziato; il germe sporifica, con tendenza marcata alla spora libera e forma sottili filamenti.

Latte. — Coagulazione a blocchi nelle 12 ore; indi, dissolvimento in grumi granulosi, con separazione di siero torbido. Formazione di filamenti lunghi (fig. 13, pag. 553); sporulazione stentata. Acidificazione.

Bile. — Resta alcalina, sviluppo molto stentato, qualche spora;

Liquido di Zacherl. — Decolorazione lenta entro 24-48 ore.

Siero di bue coagulato. — Dissolvimento lento ed incompleto anche dopo un lungo tempo; reazione debolissimamente acida; spore libere; forme a catenelle; il germe vi cresce abbastanza rigoglioso.

Pappa di cervello. — Lieve acidificazione, sporulazione; nessun cambiamento di colore.

Agar VEILLON. — Sviluppo modico con gas.

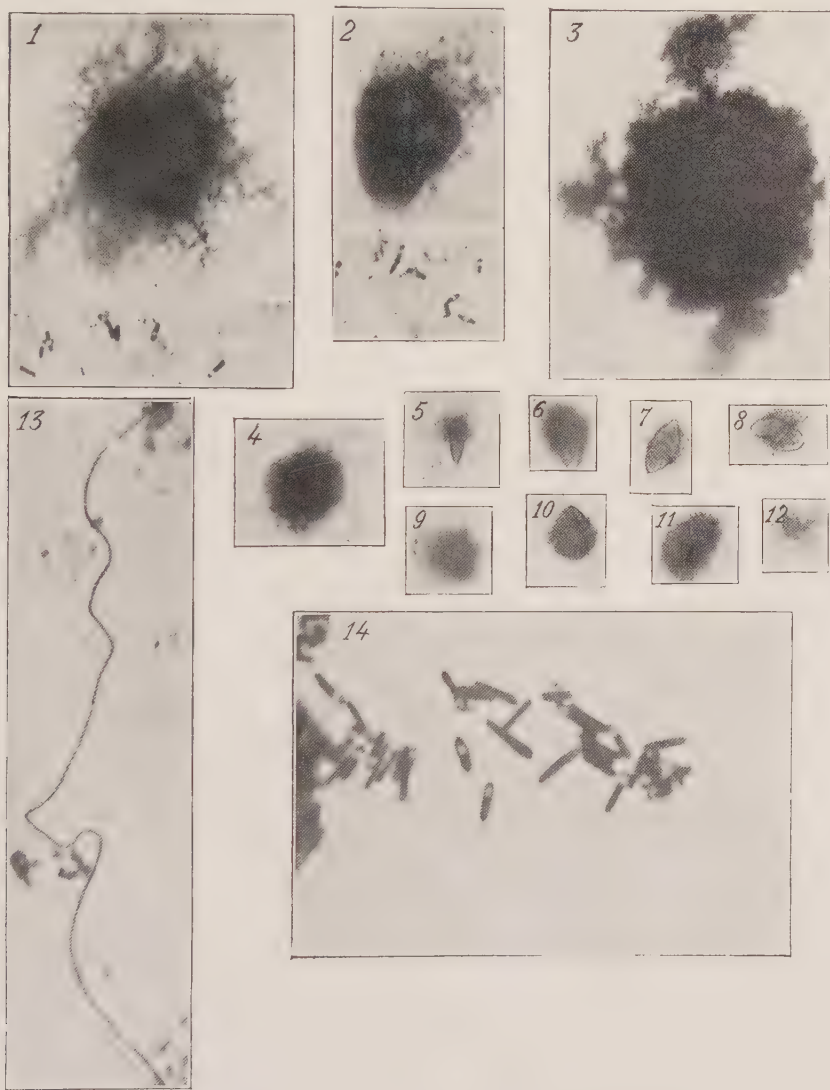
Gelatina con e senza glucosio. — Intorbidamento lieve, fluidificazione.

7.° *Proprietà saccarificanti*. — Nel *glucosio*, *levulosio*, *lattosio*, *galattosio*, è scarsa o manca la produzione di gas; nel *glucosio* è manifesto l'intorbidamento; acidificazione lieve in tutti questi zuccheri.

8.° *Proprietà patogene*. — Sono incostanti e deboli; l'inoculazione sottocutanea di brodo-coltura di 48 ore alla dose di 1 cc. per cavia di 350-400 gr. provoca la formazione di una bolla nera nello spazio di 24 ore; la bolla contiene liquido ematico limpido. Al fatto locale si accompagna qualche fenomeno generale, con rialzo termico di circa 1 grado, che scompare verso il 3° giorno.

Alla rottura della bolla segue escara secca; la guarigione è totale e rapida.

L'iniezione endovenosa provoca malessere, qualche tremore, ipotermia transitoria; l'animale al termine del 2° giorno è completamente rimesso. Come lesioni, a segnalarsi una leucocitosi di grado abbastanza notevole.



Le proprietà patogene si sono considerevolmente attenuate nel corso di questo studio.

9.° *Prodotti*. — La coltura, *filtrata o centrifugata*, alla dose di 4 cc. per cavia di 400 gr. di peso, provoca, per iniezione sotto-cutanea, la formazione

di una vescicola, alla quale può tener dietro la ulcerazione delle cute e la formazione di un'escara secca.

Il filtrato ha azione emolizzante debolissima sui globuli di cavia e di coniglio.

10.° *Reazioni immunitarie.* — Dal coniglio, preparato con iniezioni endovenose di coltura *in toto* o di sedimento batterico, è possibile ottenere un siero debolmente agglutinante. Il siero, preparato da due stipiti riuscì agglutinante solo per gli stipiti omologhi in diluizione 1×100 .

11.° *Effetti della inoculazione sperimentale.* — Abbiamo già accennato agli effetti della inoculazione sotto cutanea nella cavia; più avanti aggiungeremo qualche cosa nei riguardi di alcune ricerche condotte allo scopo di studiare l'influenza di associazioni batteriche ed abatteriche.

2.° Gruppo (1 caso: Agosto 1917)

Sede della ferita. - Gamba sinistra. — Ferita lacero contusa, con asportazione di parti molli; frattura comminuta del collo del piede, dell'astragalo e del calcagno.

L'emocoltura in brodo Tarozzi fu praticata 27 ore dopo la ferita (ore 18 del 24-8-17). Nell'esame della coltura alla 24^a ora, bastoncini mobili: alla 48^a ora, forte odore di formaggio guasto che si cambia in leggermente fetido nei giorni successivi; colorito verdognolo del brodo; lieve annerimento del frammento.

Due cavi, inoculate in peritoneo col sangue attinto per l'emocoltura, dopo 20 ore circa di malessere, si rimettono completamente.

Il ferito venne amputato al 3° superiore della gamba e dimesso in 12^a giornata pressochè guarito.

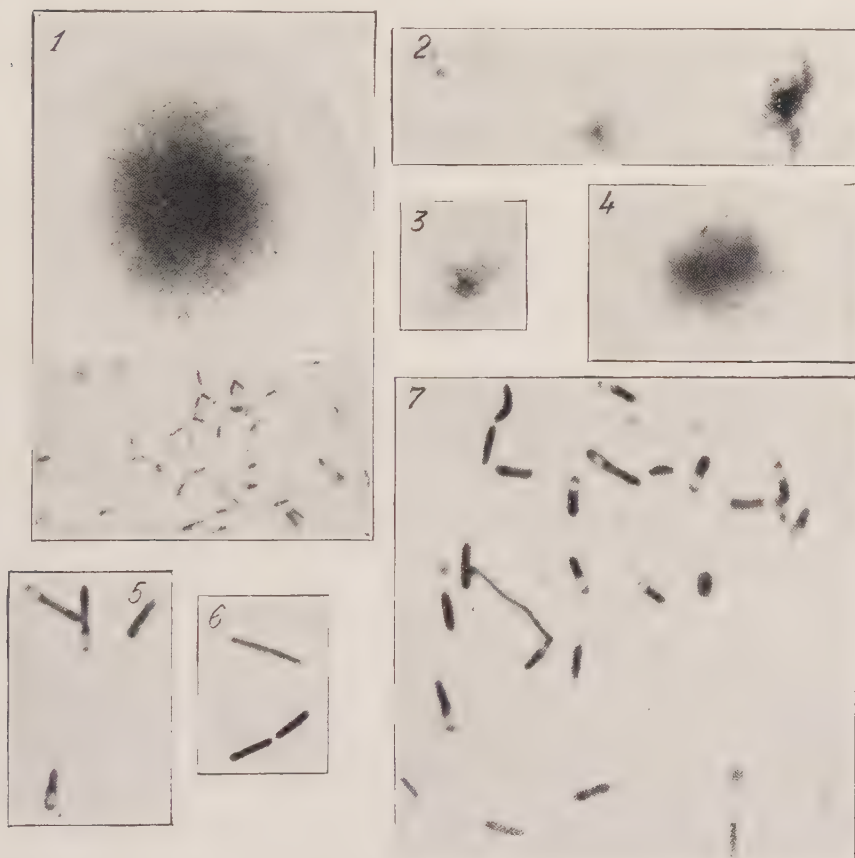
Quadro locale. — *Enfisema putrido del dorso del piede; edema con infiltrazione icorosa, sotto-cutanea e profonda, del collo del piede e del 3° inferiore della gamba; cute necrotica, con zone di sfacelo alla regione infero-interna della gamba.*

a) *Colonia.* - In agar. — Sviluppo abbastanza rapido di coloniette che nel loro nascere richiamano singolarmente l'aspetto di colonie già descritte e specialmente di quelle del 4° gruppo (fig. 1, pag. 555).

Queste coloniette iniziali (fig. 2 e 3, pag. 555) risultano di un esilissimo cespuglietto, spesso composto di 6-8 lunghi e fini filamenti, che si dipartono da un centro rotondeggiante, discoide, granuloso. L'accrescimento è rapido, con formazione e graduale accentuazione di un nucleo centrale opaco, fino a che la colonia assume l'aspetto della fig. 1, pag. 555. La colonia, risulta allora di un bel centro scuro, a margini irregolari, dal quale si dipartono filamenti esilissimi, raggiati, che quasi mai si intrecciano e mai portano traccia di quelle formazioni sferoidali che impartiscono una fisionomia spe-

cialle alle coloniette aperte, a batuffolo, di alcuni dei germi descritti nelle emocolture dei casi mortali.

La colonia tipica, giunta al suo completo sviluppo, rimane per lungo tempo immutata e con molta lentezza si avvia ad alcune modificazioni, consistenti in una graduale diminuzione di opacità del nucleo centrale, mentre



che i filamenti raggiati sembrano diradarsi, fondersi in parte assieme, in modo che la colonia perde alquanto dei caratteri di colonia aperta e può finire col presentarsi sotto aspetto di una colonia semichiusa, contornata da una raggiera di corti e radi filamenti.

b) **Germe.** - In Agar. - 1.° *Forma e dimensioni.* - Bastoncino diritto, lungo in media 5.3μ , largo 0.75μ , ad estremità arrotondate, ben colorato, senza zone acromatiche: la sporulazione è rapida, poiché già al 3° giorno numerose sono le forme sporulate e le spore libere; il germe è isolato o a due, talvolta a canna di fucile, raramente in catenelle di 4-5 elementi, mai in filamenti (fig. 1, in basso). Sviluppo con scarso gas.

Nel brodo glucosato, le dimensioni sono lievemente superiori a quelle dell'agar; anche qui notevole la tendenza a sporulare; gas in modica quantità; il germe si presenta talvolta in corto filamento, (fig. 5, pag. 555).

Nel brodo non glucosato, il germe è meno sviluppato e minore tendenza manifesta alla sporulazione, gas scarsissimo, (fig. 6, pag. 555).

2.^o *Colorabilità*. — Il germe non resiste al GRAM; si colora però in modo uniforme colla fuxina basica e collo ZIEHL.

3.^o *Sporificazione*. — Rapida in agar e nel brodo glucosato, assente nella bile di bue; scarsissima nel latte; discretamente abbondante nel siero. La spora è sempre paraterminale, leggermente rigonfia (fig. 7 pag. 555). Il brodo glucosato è terreno più adatto alla sporificazione che non il brodo senza glucosio.

4.^o *Mobilità*. — *Ciglia*. — Il germe è discretamente mobile nelle colture liquide; i movimenti sono di traslazione ed, in minor grado, elicoidi.

Le ciglia, lunghe, in numero di 12-16, sono talvolta intrecciate.

5.^o *Resistenza*. — La spora resiste per un'ora 95°-100°: le forme non sporulate (colture fresche) muoiono a 65° dopo 20'.

6.^o *Caratteri culturali*. — In brodo glucosato, sviluppo abbastanza rapido, con discreta quantità di gas; l'intorbidamento è uniforme, il brodo diventa talvolta verdognolo scuro, il frammento è lievissimamente annerito, odore spiccatamente fetido, acidificazione e sporulazione. L'odore fetido si perde nelle colture vecchie. A notarsi che i ripetuti passaggi dai mezzi culturali attenuano sensibilmente le proprietà biochimiche.

Nel brodo non glucosato, il cambiamento di colore in verdognolo è meglio manifesto: odore fetido; frammento lievemente annerito: acidificazione molto scarsa od assente, minore sporulazione.

Nel brodo Martin sviluppo rigoglioso, con odore putrido accentuato; annerimento del frammento.

La chiarificazione del liquido e la sedimentazione delle colture in brodo procede molto lentamente e talvolta il liquido si conserva torbido anche al 5°-7° giorno, il deposito è piuttosto scarso e d'aspetto polverulento; il liquido soprastante non diventa mai del tutto limpido e trasparente.

Nel brodo all'uovo, i pezzetti di bianco d'uovo sono digeriti rapidamente.

Sangue umano. — Laccatura piuttosto lenta.

Liquido ascitico. — Sviluppo abbondante; spore rigonfie, ovalari.

Latte. — Digestione senza coagulazione: il liquido però è torbido e tale si conserva.

Bile. — Sviluppo molto stentato: il germe si presenta talvolta in filamenti sottili; sporulazione molto scarsa: le spore si presentano libere.

Siero di bue coagulato. — Rapida digestione.

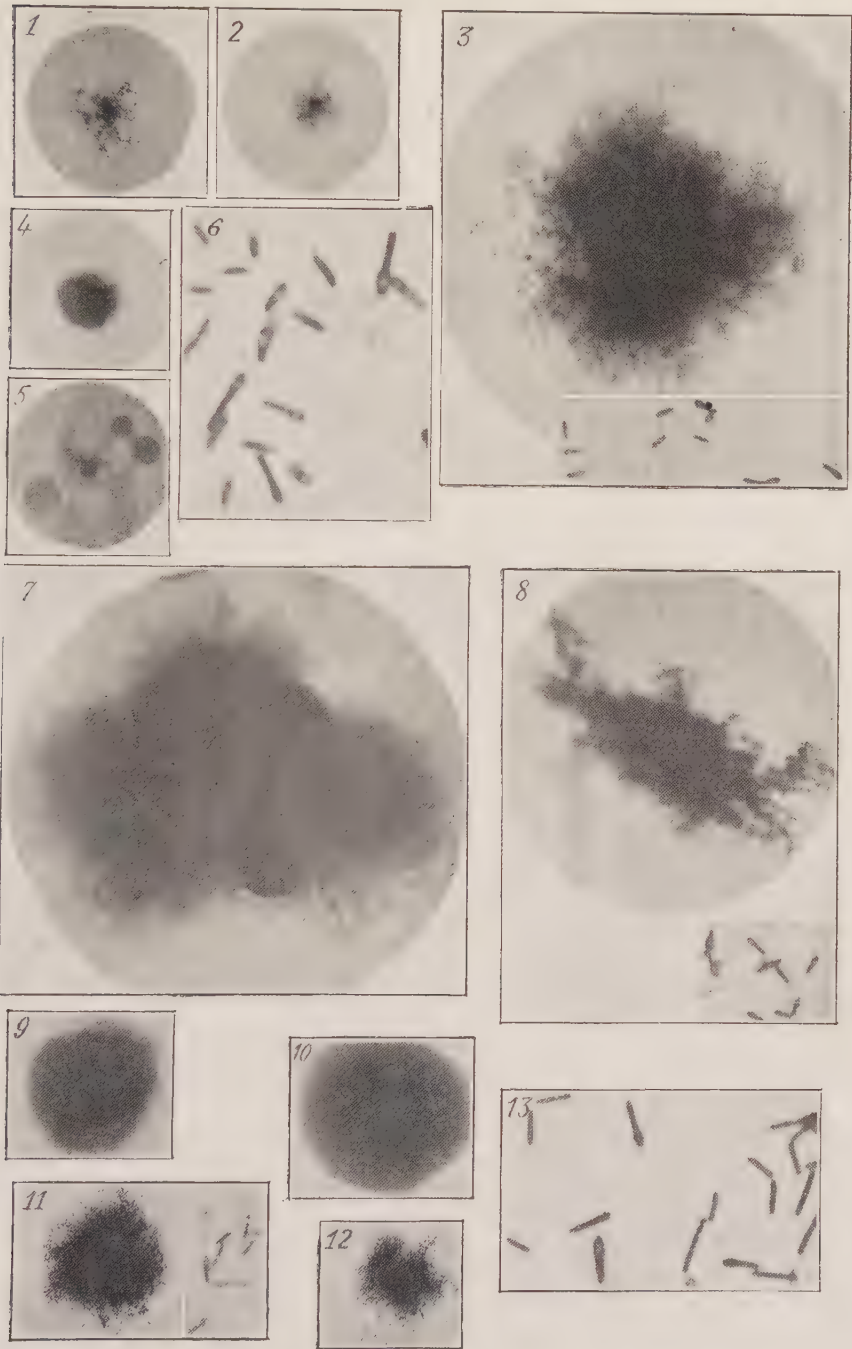
Pappa di cervello. — Lieve annerimento al fondo.

Gelatina con e senza glucosio. — Rapida e completa digestione (della 16^a alla 24^a ora).

7.^o *Proprietà saccarificanti*. — Scarsissime, per il glucosio, lattosio e saccarosio.

8.^o *Proprietà patogene*. — Sono presso a poco identiche a quelle del germe precedente.

9.^o *Prodotti*. — La cultura ed il suo filtrato hanno un'azione debolissimamente emolizzante sui globuli rossi umani e di coniglio.



10.° *Reazioni immunitarie.* — Non è stato possibile mettere in evidenza la presenza di agglutinine nel *coniglio*, preparato mediante l'inoculazione di corpi batterici o di coltura totale.

3.° Gruppo (1 caso: 26 gennaio 1918).

Frattura esposta delle ossa dell'avambraccio destro, datante da otto giorni.

RIASSUNTO CLINICO. — La donna venne ricoverata in Nosocomio la notte dal 26 al 27 gennaio 1918: l'avambraccio e la mano destra tumefatti, neri, con cute in isfacelo a larghi tratti: quattro dita al disopra della piega del gomito, un solco profondo, rosso-scuo.

Tutto l'avambraccio e la mano presentavano le note dei tessuti in preda a gangrena: sulla faccia volare dell'avambraccio, al 4° inferiore, una soluzione di continuo, ristretta, ma profonda, provocata da uno dei frammenti ossei.

Dalla parte emana odore fetido, acre: colla pressione leggera si provoca la fuoruscita di liquido nerastro commisto a bollicine di gas.

Al disopra del gomito: edema delle parti molli del braccio, con strisce linfagioitiche accentuate fino all'ascella.

Condizioni generali gravi, ma non allarmanti: P. = 118 - 125; T. 38.2 - Respiro frequente, colorazione subitterica pronunciata della sclera e della cute; urine color malaga, con tracce di albumina.

Nella mattina del giorno 27 si procede alla presa di sangue dalla vena del gomito sinistro, col quale vengono insemenzati tubi di brodo TAROZZI, tubi di brodo MARTIN con fegato e tubi di brodo semplice: uguale procedimento si usa nell'allestire le colture con materiale tolto in profondità, mediante il cucchiaino di VOLKMANN, in corrispondenza del focolaio di frattura, aperto all'esterno.

Nelle 24 ore successive nei brodi anaerobi della emocoltura si ha intorbidamento discreto, sviluppo di gas ed odore lievemente putrido: in tutti i tubi insemenzati col materiale del focolaio di frattura si ha nello stesso tempo intorbidamento, gas ed odore fetido: dai tessuti del focolaio, oltre il germe anaerobio, fu isolato anche uno streptococco.

Nel pomeriggio del 27 gennaio aggravandosi le condizioni della parte ed essendo l'inferma tormentata da dolori tensivi all'avambraccio, a nulla essendo valsi i generosi sbrigliamenti praticati nel mattino, venne eseguita l'amputazione del braccio al 3° medio.

All'atto operatorio seguì rapida scomparsa dei sintomi: la guarigione del moncone si effettuò rapidamente per seconda intenzione, con apparecchio a trazione sul manicotto delle parti mobili, in modo da impedirne la retrazione.

Intanto, il mattino 28 gennaio, 10 ore dopo l'operazione, veniva eseguita un'altra emocoltura, con esito *positivo*. La terza emocoltura a 18 ore di distanza riuscì *negativa*.

a) *Colonia.* - In agar. — Nell'insemenzamento abbondante, sviluppo strettamente anaerobio, solo al centro della 3^a piastra, di coloniette a nucleo centrale nero già bene delineato nelle prime ore (fig. 1 e 2 di 16 ore pag. 557);

da questo nucleo si dipartono filamenti non numerosi e non molto fini, i quali si intrecciano reciprocamente, ma in modo non molto fitto; qualche colonietta si presenta anche sotto aspetto di un nucleo denso, con poche, corte ma più fini diramazioni, irregolarmente distribuite alla periferia. Se l'inseminamento è poco abbondante, in modo da ottenersi lo sviluppo di poche colonie (8-10), le dimensioni di queste sono molto più considerevoli (fig. 3 pag. 557); si ha allora un voluminoso nucleo a margini indecisi, attorniato da numerose ramificazioni, sul tragitto di ognuna delle quali si può osservare qualche rado rigonfiamento, scuro ed opaco. L'aspetto caratteristico della colonia è, così, rappresentato da una colonia aperta, la quale differisce dalla classica colonia a batuffolo soltanto per la *compattezza ed opacità del nucleo centrale*, per la *minore finezza e lunghezza delle ramificazioni* e per la *manca* di produzione sferoidali ed anulari.

Ma anche qui, come già altrove, è dato assistere allo sviluppo di colonie voluminose col tipo semichiuso e chiuso (fig. 9 e 10 pag. 557): il fatto si verificò due volte nel corso delle nostre osservazioni e cioè la prima, trapiantando in agar il brodo dell'emocoltura iniziale di 39 giorni; la seconda, in una piastra allestita con sangue del cuore di cavia. Quantunque il fatto non fosse insolito, tuttavia esso non mancò di richiamare la nostra attenzione. La colonia chiusa della fig. 10 venne trapiantata in brodo e con questo furono allestite nuove piatte: le colonie sviluppatasi, strettamente anaerobie, ripeterono perfettamente la struttura delle colonie caratteristiche del germe, e cioè di coloniette a nucleo centrale denso, opaco, con ramificazioni di lunghezza moderata (fig. 11 e 12 pag. 557), costituite da germi sporulanti col tipo ritratto nella fig. 11 (700 D) e 13 (900 D).

In gelatina. — Colonia a margini filamentosi; data la fusione del mezzo, non è possibile seguire con esattezza le eventuali modificazioni.

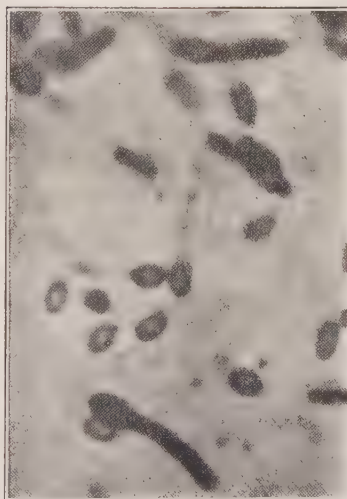
b) Germe. - 1.° *Forma e dimensioni.* — In agar (fig. 3, 8, 13, pag. 557 e fig. a pag. 559, 3000 D), bastoncino talvolta ricurvo, il più spesso diritto, lungo μ . 3,5-5; largo 0,75-0,80. Nel brodo glucosato e nel brodo senza glucosio, le dimensioni sono presso a poco eguali a quelle dell'agar. Non infrequenti le forme sottili, granulose.

Nel latte non si osservano filamenti; il germe vi cresce abbastanza rigoglioso, producendo scarse spore, che tendono a farsi libere. La produzione di gas è intensa in tutti i terreni.

2° *Colorabilità.* — Facile: il germe non è GRAM-resistente.

3° *Sporificazione.* — Rapida nel brodo con o senza glucosio, nell'agar; nel latte spora paraterminale, con molta tendenza alla spora libera. La spora è oblunga, piccola.

4° *Motilità.* - *Ciglia.* — Il germe è molto vivacemente mobile. Ciglia lunghe, peritriche, in numero di 8-12.



5.° *Resistenza*. — La spora resiste a 100° per 25'-30'.

6.° *Caratteri culturali*. — Nel brodo non glucosato, intorbidamento uniforme e non abbondante; sviluppo mediocre; nel brodo glucosato lo sviluppo è alquanto più rigoglioso: già entro le 12-16 ore, dalla coltura emana odore fetido ed irritante. Il brodo, specialmente non glucosato, prende una leggera tinta verdognola; il frammento però non è annerito; gas in discreta quantità; acidificazione assente nel brodo non glucosato; lieve sviluppo di H²S.

Sangue umano. — Lievissima emolisi nelle 48 ore; dal coagulo si separa siero roseo. Sopravviene lentamente la dissoluzione del coagulo, la quale però non è mai completa. La tinta del sangue è rosso-scura, mai nera.

Latte. — Nelle 24 ore, incipiente coagulazione a blocchi con separazione di liquido leggermente torbido; nei giorni successivi ora si osserva coartazione della caseina con liquido punto o appena torbido. La coagulazione in tal caso è tipicamente a spugna, e neppure a lunga distanza di tempo la caseina è digerita. Il più spesso però alla coagulazione iniziale segue la digestione lenta.

Bile. — Sviluppo molto stentato; reazione neutra o debolissimamente acida.

Liquido di Zacherl. — Decolorato nelle 24 ore.

Siero di bue coagulato. — Sviluppo stentato; la fluidificazione è lenta ed incompleta: annerimento nel 4° inferiore; reazione neutra.

Liquido ascitico coagulato. — Reazione alcalina; lieve annerimento.

Pappa di cervello. — Gas, intorbidamento, nessun annerimento.

Agar Veillon. — Sviluppo con rottura dell'agar.

Gelatina con e senza glucosio. — Lenta e talvolta incompleta fluidificazione.

7.° *Proprietà saccarificanti*. — Il germe ha una azione abbastanza spiccata sul glucosio, maltosio, lattosio e saccarosio, con acidificazione notevole e sviluppo di gas.

8.° *Proprietà patogene*. — La cavia è leggermente sensibile alla iniezione sotto-cutanea; la coltura in brodo glucosato di 24 ore alla dose di 2 cc. per 500 gr. di peso provoca rialzo termico, in principio irrequietitune, poi abbattimento; il pelo diventa irto. Localmente si può osservare, ma non costantemente, la formazione di edema.

L'iniezione endovenosa è sopportata meno bene: essa provoca ipotermia notevole e disturbi respiratori talvolta impressionanti; alla dose di 5 cc. per cavie di 450-500 gr. di peso, si può osservare la morte. In adatti terreni (bile di bue) il germe sembra acquistare notevole virulenza.

Il coniglio sopporta impunemente anche per via endovenosa dosi forti di brodo-coltura o di sedimento batterico stemperato in soluzione fisiologica.

9.° *Prodotti*. — La coltura filtrata riproduce nella cavia il quadro provocato dalla coltura in *toto*; in *vitro*, manifesta azione dissolvente sui globuli rossi di coniglio e d'uomo; l'azione emotossica scompare col riscaldamento a 65° per 20'.

10.° *Reazioni immunitarie*. — La produzione di agglutina fu ottenuta nel coniglio, inoculato in vena ora con sedimento batterico ora sotto-cute con brodo coltura in *toto*; questo siero agglutina nella diluizione del 1×100-1×250.

11.° *Effetti delle inoculazioni sperimentali.* — Come già abbiamo accennato, il germe è dotato di scarsa proprietà patogena per la cavia e nulla per il coniglio; più avanti verrà detto di alcuni esperimenti, intesi a studiare l'influenza di alcune sostanze sull'attività patogena del germe stesso.

RIASSUNTO DEI GERMI PUTRIFICANTI ISOLATI COLLA EMOCOLTURA

Nella tabella seguente sono riepilogati i caratteri dei germi descritti nei tre gruppi.

I. Gruppo	II. Gruppo	III. Gruppo
<i>Colonia in agar.</i> — Semi-aperta, a grosso nucleo centrale e diramazioni grossolanamente arbore-scenti.	<i>Colonia in agar.</i> — Aperta, spesso col tipo della colonia classica a batuffolo di ovatta, con filamenti esilissimi.	<i>Colonia in agar.</i> — Semi-aperta, con nucleo centrale compatto; può presentarsi talvolta anche come colonia a batuffolo di ovatta, con ramificazioni però non molto sottili.
<i>Germe.</i> — Dritto, mobile, sporulante col tipo paraterminale, forma nel latte filamenti; GRAM-negativo.	<i>Germe:</i> dritto, più lungo, mobile, sporulante col tipo paraterminale, e specialmente nei tessuti glucosati; GRAM-negativo.	<i>Germe:</i> spesso leggermente ricurvo, mobile, sporulante, col tipo paraterminale in quasi tutti i terreni, spora frequentemente libera; GRAM-negativo.
<i>Caratteri culturali.</i> — Lievemente putrificante, fluidifica la gelatina e parzialmente il siero, digerisce la caseina, previa coagulazione; non annerisce il cervello. Potere saccarolitico scarso.	<i>Caratteri culturali.</i> — Lievemente putrificante, fluidifica rapidamente la gelatina ed il siero, digerisce la caseina senza coagularla; annerisce molto lievemente il cervello. Potere saccarolitico scarso.	<i>Caratteri culturali.</i> — Putrificante, fluidifica lentamente la gelatina, parzialmente il siero coagulato ed il latte nel quale talvolta si ha coagulazione a spugna; non annerisce il cervello. Potere saccarolitico più manifesto.
<i>Proprietà patogene.</i> — Lievi, con tendenza alla mortificazione delle parti molli.	<i>Proprietà patogene.</i> — Necrotizzanti.	<i>Proprietà patogene.</i> — Tendenza edemizzante.

Identificazione.

Il germe del 1.° gruppo presenta caratteri morfologici e culturali vicini a quelli del 3.°; se ne differenzia:

1.° per la forma della colonia; 2.° per la morfologia nel latte; 3.° per alcune particolarità dell'azione digerente sulla caseina. Il siero agglutinante del 3.° gruppo agglutina debolmente il germe del 1.° gruppo alla diluizione 1×25 .

Il germe del 2.° gruppo si differenzia:

1.° per la morfologia della colonia a tipo classicamente aperto;
2.° per le proprietà digerenti più spiccate sulla gelatina, sul siero e sulla caseina.

Il potere patogeno è presso a poco di eguale grado pei tre germi: quelli del 1.° gruppo si distinguono per una maggiore facilità a produrre flittene e bolle.

I tre germi furono cimentati con siero *agglutinante antivibrione settico*, ed il risultato fu *negativo*.

I tre germi descritti presentano parecchi punti di contatto col *B. sporogenes* di METCHNIKOFF; ma quest'ultimo si segnala:

1°) Pel *potere peptolitico in vitro più accentuato*, tanto da provocare la distruzione avanzata delle sostanze proteiche fino all'ammoniaca.

2°) Per la *rapida digestione del latte*, senza previa coagulazione.

3°) Per le *proprietà patologiche più decise*; la cavia, infatti, può soccombere alla iniezione endo-muscolare di coltura in brodo, con fatti di flemmone putrido esteso; alla iniezione sottocutanea segue formazione di flittene e di ampia escara molle.

4°) per la GRAM-resistenza.

WEINBERG e SÉGUIN osservarono nell'uomo, in seguito a contaminazione delle mani, fatti di coliche intestinali violente (il germe fu isolato da METCHNIKOFF nelle feci di individui sani o sofferenti di turbe intestinali leggere).

Per questo complesso di caratteri e per altri, (forse meno probativi, ma non trascurabili quali, ad es., la forma delle colonie, non ci sentiamo autorizzati ad omologare i germini al *B. sporogenes*; riteniamo tuttavia, che essi possano, con quest'ultimo, rappresentare stipiti di un più grande gruppo.

III. Considerazioni - Riassunto - Identificazione.

Colle emocolture, eseguite *in vivo*, è stato possibile isolare due grandi gruppi di anaerobi, gli uni, fortemente e costantemente patogeni, per i comuni animali di laboratorio; gli altri, di scarsa virulenza; i primi, a chemismo mai putrido, debolmente proteolitici, più o meno vivacemente saccarificanti; i secondi, più o meno accentuatamente peptolitici, dotati di attività saccarificante meno accentuata.

Il fatto della possibilità di emocoltura positiva *in vivo*, per germi anaerobi obbligati, è interessante, ma non più nuovo, FRÄNKEL, ACHALME, ALBARRAN e COTTET, JUNGANO, GARNIER e SIMON, GILBERT e LIPPMANN riferirono, da tempo, su casi, nei quali fu possibile l'isolamento di germi anaerobi nel sangue circolante (*B. perfringens*, *B. ramosus* ed altri anaerobi non identificati). E. FRÄNKEL, nel 1912, ribadiva il concetto della possibilità che, almeno per qualche tempo, i germi della gangrena gassosa si trovino in circolo. LENHARTZ riporta un caso gravissimo di febbre puerperale, con esclusiva presenza, nel sangue, del *B.* di FRÄNKEL.

Tutti i germi più virulenti delle infezioni gassose delle ferite di guerra furono ritrovati nel sangue vivente: *B. perfringens*, *V. settico*, *B. oedematiens*. Il primato pare detenuto dal *V. settico*; il che può spiegarsi col fatto che questo germe è, proporzionalmente, l'agente più frequente dei casi mortali. ANDERSON e RICHARDSON riportano un caso a decorso letale in 12 ore, col *B. dell'edema maligno* in circolo. Questi stessi AA., d'altro canto, accennano a casi *non mortali*, nei quali essi poterono dimostrare nel circolo sanguigno il *B. perfringens*.

La questione fu discussa nel corso della guerra a proposito dei casi di metastasi, dagli uni interpretata come un trasporto dei germi per via linfatica (COENEN), dagli altri, quale esponente di uno stato *bacteriemico* o *setticoemico*.

KAUSCH, KÜMMEL, PAYR, PRIBRAM sono sostenitori della batteriemia. SIEGERT è dello stesso avviso; WEINBERG e SÉGUIN si associano a tale interpretazione. Secondo essi, è possibile svelare la presenza degli anaerobi, anche nei preparati di sangue a striscio; eventualità però eccezionale, che non mi fu possibile confermare nel corso delle presenti ricerche. Dai risultati delle emocolture di WEINBERG e SÉGUIN rilevasi una percentuale molto alta di passaggio nel sangue circolante dei germi anaerobi delle ferite; nei casi mortali, ad es., il *V. settico* si troverebbe in circolo nel 100 %; il *B. perfringens* nell'80 % dei casi; sopra 80 emocolture praticate da KLOSE, 48 risultarono positive *in vivo*, per un germe vicino al *B. perfringens* ed al *B.* del *c. sintomatico*.

STOKES, LARDENNOIS e BAUMEL, KEHL, SIEGERT riportano percentuali positive di grado vario.

I risultati da noi ottenuti colla presa di sangue *in vivo* sono dei più probativi, in quanto dimostrano non solo il passaggio,

ma anche: 1.° la lunga permanenza del germe in circolo; 2.° la conservazione della sua virulenza (effetti delle iniezioni endoperitoneali nella cavia).

Condizioni permettenti e favorevoli all'entrata ed alla permanenza degli anaerobi nel sangue vennero sotto vario aspetto prospettate.

L'oligoemia e l'ipotensione, nel caso di anemia grave, costituirebbero momenti favorevoli alla vita del germe anaerobio nel torrente circolatorio (PAYR e KAUTSCH); i gravissimi traumatismi, implicanti forte perdita di sangue, sarebbero quindi chiamati in causa. Agirebbero nello stesso senso le alterazioni subite dai globuli rossi del sangue per parte delle tossine batteriche immesse nel circolo (azione emolitica) e le alterazioni che si tradurrebbero in una diminuita capacità di fissazione dell'ossigeno e quindi di nutrizione dei tessuti. La mancanza o la forte deficienza di afflusso lencocitario, sarebbe poi, secondo alcuni (GAZA), uno dei coefficienti non ultimi, favorevoli alla penetrazione del germe nel sangue.

Alcuni pensarono anche che la trombosi venosa, possa costituire una condizione favorevole al trasporto di materiale trombotico infetto nel sangue, colle possibilità seguenti:

1°) *che i germi si moltiplichino nel sangue circolante;*

2°) *che, fissandosi nei territori capillari, facciano, del punto di arresto, la base di partenza e di evoluzione di infezioni metastatiche.*

Qual si sia l'interpretazione, rimane indiscussa la frequenza di reperti positivi dell'emocultura *in vivo*, non solo, ma anche di reperti precocemente positivi.

Ed a conforto delle risultanze cliniche, stanno quelle sperimentali, le quali ci dimostrano la percentuale assoluta delle emocolture positive, non solo, ma anche la rapidità dell'entrata del germe nel circolo sanguigno (reperti positivi sugli strisci di sangue di *topo* già dopo quattro ore dall'inoculazione).

D'altra parte, la possibilità di sviluppo di germi strettamente anaerobi, come il *B. perfringens*, il *V. settico*, il *B. oedematiens* nel sangue umano *in vitro*, ci avverte, che, con ogni probabilità, anche in tessuti eminentemente ossigenati, intervengono condizioni, le quali permettono la vita aerobica di germi anaerobi.

In una serie di esperienze non ultimate, io tentai di rendermi conto del modo di comportarsi di germi anaerobi obbligati,

immessi nel torrente circolatorio. All' uopo, utilizzai il *C. sintomatico I* ed il *germe putrido* del 3.^o gruppo.

Del germe patogeno fu iniettato il sedimento colturale sporificato, riscaldato a 80° per 30'.

Del germe *putrido* fu iniettato sedimento di coltura in brodo, quasi sempre intensamente sporificata, non riscaldato.

L'animale di scelta fu il **coniglio**.

Riassumo alcune *esperienze*:

8 aprile 1918, ore 18. — Coniglio di gr. 600. — T. 39°. — Iniezione endovenosa di sedimento batterico, sporificato, tenuto a 70° per 30', del C. S. I (*controllo colturale positivo*). Ore 19 T. 37°,8.

9 aprile, ore 8. — T. 39°,3. — L'animale non dà segni di sofferenza;

Ore 14: presa di 6 cc. di sangue dalla carotide sinistra; presa di 3 cc. di urina (previa laparotomia).

Emocultura: positiva nelle 24 ore.

Coltura dell'urina: negativa.

Esame del sangue a striscio: negativo.

10 aprile. — Ore 8. T. 38°,6. — Ore 16: presa di 3 cc. di sangue dalla carotide sinistra; laparotomia: presenza di liquido ematico nel peritoneo.

Emocultura: positiva dopo 15 ore di termostato, con sviluppo di gas e del germe in coltura pura.

Coltura dall'urina: positiva.

Nel peritoneo: filamenti.

Coltura positiva del liquido peritoneale.

11 aprile, ore 11, morte. L'autopsia dimostra le lesioni caratteristiche.

Meglio probativa risulta una delle esperienze praticate col *germe putrificante* del 3.^o gruppo, anaerobio strettissimo.

30 aprile 1919, ore 19. — Coniglio di gr. 1100.— T. 39°,3. — Iniezione endovenosa di sedimento batterico di una intera coltura in brodo di 24 ore (spore e bastoncini).

1 maggio, ore 8, T. 39°; ore 18, T. 39°,6.

2 maggio, ore 10 (dopo 39 ore): presa di 3 cc. di sangue dalla giugulare. Inseminamento in brodo anaerobio ed aerobio. Sviluppo anaerobico puro, con forte odore putrido, entro 48 ore. Nella piastra anaerobica in agar, sviluppo delle tipiche coloniette.

L'emocultura, eseguita nuovamente con sangue, attinto alla 52^a e 64^a ora, risulta negativa.

L'animale venne a morte il 27 giugno: all'autopsia, nulla di specialmente interessante, salvo la presenza di estesa coccidiosi epatica.

Riassumendo: l'emocultura era risultata positiva alla 39.^a ora, dopo la praticata iniezione endovenosa ed il germe, ripreso dal

sangue, nulla aveva perduto della sua vitalità. Facciamo notare che gli strisci praticati su 20 vetrini, risultarono *negativi*.

In una seconda esperienza di questo genere si ottenne emocoltura positiva alla 4.^a e 22.^a ora: positiva risultò pure la coltura dell'orina, in 22.^a ora. L'animale, un coniglietto di gr. 580, morì alla 25.^a ora, pel trauma sofferto. La coltura dal sangue, dal fegato e dall'orina, dopo morte, risultò positiva.

Ogni conclusione sarebbe, ora, azzardata: mi limito quindi alla pura esposizione dei fatti osservati, ripromettendomi ulteriori ricerche. Ricordo intanto che esperienze del TAROZZI, con iniezioni endovenose di spore tetaniche, avevano già dimostrato la possibilità che le spore si fissino specialmente nel fegato, dove, sotto condizioni adatte, possono svilupparsi e riprodurre il quadro tetanico classico.

* * *

Quale il significato da assegnarsi alla presenza dei germi anaerobi nel circolo sanguigno? setticoemico o batteriemico semplice? la risposta non è agevole. La possibilità di *metastasi*, dove, come nel caso nostro, il germe del focolaio corrispondeva a quello del sangue, l'eventualità di infezioni puerperali da *B. perfringens*, solo o prevalente, il reperto colturale positivo precoce sì nell'animale che nell'uomo, sono fatti degni della massima considerazione.

* * *

Riguardo alla identificazione degli anaerobi patogeni isolati, si può osservare quanto segue:

I germi dei primi quattro gruppi hanno in comune parecchi caratteri fondamentali e cioè: la *mobilità*, la *sporulazione*, l'*attività proteolitica limitata*, la *quasi nessuna azione digerente sulla caseina* e la *mancaza di ricambio putrido*; differiscono gli uni degli altri:

1°) per la mancanza di agglutinazione crociata;

2°) per alcuni caratteri morfologici, colturali, anatomo-patologici e patogenetici come dal prospetto seguente (pag. 567).

Le differenze rilevate non permettono quindi di omologare in un unico stipite i germi dei quattro gruppi.

Il 3.° gruppo attrasse la nostra attenzione per alcune somiglianze col *B. oedematiens* (scarsissima mobilità, odore talvolta leggermente fetido della coltura in brodo, sporulazione facile

I. Gruppo

Colonia (agar). - Aperta con forme atipiche (chiuse) non frequenti.

Germe (agar). - Tendenza spiccata al filamento, qualche forma degenerativa, scarsamente mobile: GRAM-resistente.

Brodo glucosato. - Spore col tipo paraterminale prevalente: deposito fioccoso abbondante.

Brodo non glucosato. Tendenza al filamento ed alle forme degenerative.

Sangue umano. - Lacatura rapida, con dissolvimento.

Latte. - Coagulazione a spugna, siero limpido.

Siero. - Nessun attacco; reazione immutata, nessun annerimento, sporulazione.

Cervello. - Nessuna modificazione.

Bile. - Sviluppo molto stentato, qualche filamento.

Tessuti di animali viventi. - Talvolta sporulazione; scarsa tendenza al filamento; maggiore mobilità.

Animali ricettivi. - Cavia, topo, coniglio, pulcino.

Lesioni macroscopiche. - (Cavia). Edemo-emorragiche.

II. Gruppo

Colonia (agar). - Aperta, con tendenza alla forma ad anelli.

Germe (agar). - Tendenza alle forme atipiche e degenerative. Discretamente mobile: GRAM-resistente.

Brodo glucosato. - Scarsa tendenza alla sporulazione: sedimentazione discreta.

Brodo non glucosato. Sporulazione più abbondante.

Sangue umano. - Lacatura con dissolvimento.

Latte. - Coagulazione a spugna, siero limpido.

Siero. - Lieve attacco tardivo, reazione immutata, forme filamentose.

Cervello. - Arrossamento al fondo: acidificazione.

Bile. - Sviluppo molto stentato.

Tessuti di animali viventi. - Rarissima sporulazione, filamenti abbondanti e lunghi nel peritoneo e nel fegato; mobilità vivace.

Animali ricettivi. - Cavia, topo, coniglio, poco il pulcino.

Lesioni macroscopiche. - (Cavia). Emorragiche ed enfisemizzanti.

III. Gruppo

Colonia (agar). - Aperta, piccola, con qualche tendenza alla forma ad anelli.

Germe (agar). - Bastoncino flessuoso, incurvato, senza forme atipiche e senza tendenza al filamento; quasi immobile: GRAM-resistente.

Brodo glucosato. - Forte tendenza alla sporulazione, paraterminale e centrale; sedimentazione abbondantissima.

Brodo non glucosato. Sporulazione vivace.

Sangue umano. - Lacatura accentuata.

Latte. - Coagulazione massiva, lieve dissolvimento.

Siero. - Nessun attacco, reazione acida, talvolta marcata.

Cervello. - Sviluppo vivace; acidificazione debole, reazione talvolta immutata.

Bile. - Sviluppo vivace; acidificazione spiccata, sporulazione.

Tessuti di animali viventi. - Sporulazione nel cellulare sottocutaneo e nel peritoneo; rara la presenza di filamenti; meglio evidenti i movimenti.

Animali ricettivi. - Cavia, topo, coniglio e pulcino; il cane è pure sensibile.

Lesioni macroscopiche. - (Cavia). Edemizzanti scarsamente emorragiche.

IV. Gruppo

Colonia (agar). - Aperta o semi-aperta - spesso, fortemente filamentosa.

Germe (agar). - Bastoncino diritto, omogeneo, in catenelle o in corto filamento, discretamente mobile; GRAM-resistente.

Brodo glucosato. - Sporulazione non accentuata; sedimentazione rapida.

Brodo non glucosato. Sporulazione vivace con tendenza al filamento.

Sangue umano. - Lacatura mediocre.

Latte. - Coagulazione a spugna; tardivamente, lieve digestione.

Siero. - Nessun attacco, reazione immutata o lieve acidificazione tardiva.

Cervello. - Sviluppo discreto; nessun cambiamento di colorito; reazione neutra.

Bile. - Sviluppo stentato; acidificazione debole.

Tessuti di animali viventi. - Talvolta sporulazione; formazione incostante di filamenti: più distintamente mobile.

Animali ricettivi. - Cavia, topo, coniglio; il pulcino appare sensibile alla iniezione endomuscolare; morte tardiva.

Lesioni macroscopiche. - (Cavia). Emorragiche ed enfisemizzanti.

nei tessuti viventi, ecc.); già vedemmo però come la prova della neutralizzazione col *siero anti-oedematiens* riuscisse assolutamente negativa.

Riguardo alla eventualità di affinità dei germi dei 4 gruppi col *C. sintomatico*, facciamo notare:

1°) che il campione del *C. S. I°* non fu agglutinato col siero agglutinante del 1.° gruppo, alla diluizione di 1×100 ;

2°) che il *siero anti-carbonchio sintomatico II°* si dimostrò sprovvisto di ogni azione anti-infettiva nei riguardi dei germi dei quattro gruppi ed anche del *C. S. I°*: gli animali, inoculati con miscela *coltura + siero immune*, morirono nello stesso intervallo di tempo dei controlli, tutti cioè entro le 12 ore. Come a suo tempo avvertii, però, uno degli animali iniettati con miscela *coltura C. S. II° + siero immune* corrispondente (germe e siero dell'Istituto siero-terapico di Milano), venne a morte dopo la 48ª ora, col quadro classico del *B. Chauvoei*.

Nei riguardi del *V. settico*, le prove di agglutinazione forniscono i seguenti risultati:

TABELLA A
Siero agglutinante anti-vibrione settico

STIPITI ESAMINATI	1×600		1×400		1×100		1×50		1×25	
	1 h	3 h	1 h	3 h	1 h	3 h	1 h	3 h	1 h	3 h
Gruppo I. - N. 1	0	0	0	0	0	0	?	?	+	+
» » - » 2	0	0	0	0	0	0	0	0	?	
» » - » 3	0	0	0	0	0	0	0	lieve	+	+
» » - » 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» » - » 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gruppo II. - N. 1	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
» » - » 3	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
» » - » 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	?
» » - » 6	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Gruppo III. - N. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» » - » 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gruppo IV. - N. 1	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
» » - » 2										
<i>Vibrione settico</i> (PA- STEUR)	?	?	++	++	++	++	++	++	++	++

I risultati ottenuti colle prove di agglutinazione, mi persuasero di ricorrere alla prova della *neutralizzazione*, la quale fu eseguita:

1°) col siero *anti-vibrione settico* (Istituto Pasteur);

2°) col siero *anti-B. edema maligno*, dell'Istituto sieroterapico di Milano.

Le risultanze sono riassunte nel seguente prospetto:

TABELLA B

Siero antitossico anti-vibrione settico + brodo-coltura di 24 h
dei germi patogeni ⁽¹⁾

Gruppo I. - N. 2	Cavia gr. 380	0,5 cc. coltura - 0,25 cc. siero	sopravvive
» - » 3	» » 420	0,8 » » - 0,25 » »	»
» - » 5	» » 460	0,8 » » - 0,25 » »	»
Gruppo II. - N. 1	» » 560	1 » » - 0,40 » »	»
» - » 3	» » 480	0,8 » » - 0,40 » »	»
» - » 5	» » 340	0,5 » » - 0,25 » »	»
» - » 6	» » 380	0,5 » » - 0,25 » »	»
Gruppo III. - N. 1	» » 420	0,8 » » - 0,25 » »	»
» - » 2	» » 450	0,8 » » - 0,25 » »	»
Gruppo IV. - N. 1	» » 340	0,5 » » - 0,25 » »	»
» - » 2	» » 520	1 » » - 0,25 » »	»
<i>V. settico</i> (PASTEUR)	» » 500	1 » » - 0,25 » »	»

TABELLA C

Siero anti-edema maligno

Gruppo I. - N. 2	Cavia gr. 240	0,5 cc. coltura - 0,5 cc. siero	muore in 16 ore
» - » 5	» » 250	0,5 » » - 0,5 » »	» » 19 »
Gruppo II. - N. 1	» » 280	0,5 » » - 0,5 » »	sopravvive
» - » 3	» » 250	0,5 » » - 0,5 » »	»
» - » 5	» » 240	0,5 » » - 0,5 » »	»
» - » 6	» » 230	0,5 » » - 0,5 » »	»
Gruppo III. - N. 1	» » 240	0,5 » » - 0,5 » »	muore in 23 ore
» - » 2	» » 210	0,5 » » - 0,5 » »	» » 25 »
Gruppo IV. - N. 1	» » 220	0,5 » » - 0,5 » »	sopravvive
» - » 2	» » 290	0,5 » » - 0,5 » »	»
<i>Vibrione settico</i> . .	» » 430	1 » » - 1 » »	»

Tutti i controlli morirono nello spazio di 9-12 ore.

(¹) La miscela coltura + anti-siero venne tenuta in termostato a 37° per 60', prima dell'uso.

Le dosi di anti-siero adoperate furono abbastanza considerevoli, come risulta dalla tabella; l'iniezione fu praticata sotto cute.

I risultati della prova della neutralizzazione parlano chiaramente per l'affinità strettissima dei germi dei 4 gruppi, da me studiati, col *V. settico* originario dell'Istituto Pasteur.

La prova della neutralizzazione eseguita col siero ant-edema maligno dell'Istituto siero-terapico di Milano non fornì risultati egualmente uniformi: come si vede dalla tabella C, infatti, gli animali del gruppo I.^o e III.^o morirono, quantunque in uno spazio di tempo più lungo che i controlli.

Ciò mi persuase della necessità di ripetere l'esperimento, aumentando la dose del siero. La prova fu allora ripetuta col N. 5 del I.^o gruppo e col N. 2 del III.^o, iniettando a cavie, di gr. 300 - 310, $\frac{1}{2}$ cc. di coltura di 36 ore + 1 cc. di siero.

Dei due animali, il N. 5 del I.^o gruppo presentò segni di abbattimento con rifiuto al cibo nelle prime ore dall'iniezione: il N. 2 del III.^o gruppo non presentò alcun fenomeno, tranne un rialzo termico, transitorio.

Ambedue gli animali sopravvissero.

I controlli morirono rispettivamente in 12 e 15 ore.

Riguardo ai germi del V.^o gruppo, essi vennero identificati col *B. perfringens* mediante la prova della neutralizzazione col siero antitossico antiperfringens dell'Istituto Pasteur.

* * *

La constatazione di germi nel sangue, poco o punto patogeni per i comuni animali da esperimento, è tra i fatti più interessanti in quanto ci prospetta il quesito se tali germi, risultati non patogeni nella prova sperimentale oppure dotati di virulenza quasi trascurabile, non possano invece essere dotati di carattere patogeno per l'organismo umano, quando opportune condizioni di vita e di sviluppo vengano ad essi create. Già citammo le opportune considerazioni di ZIRONI e CAPONE a proposito delle loro esperienze nei riguardi della possibilità di conferire un certo grado di virulenza a germi che abitualmente non si dimostrano patogeni per l'animale da esperimento. Qui possiamo prospettare una osservazione che non ci sembra priva di valore.

In uno dei nostri feriti (OL. V.), morto in 73 ore per infezione gassosa classica, fu prelevato un frammento di milza 5' dopo la morte e con esso vennero allestite colture in brodo Tarozi. Si ottenne sviluppo con molto gas, odore rancido, nes-

sun annerimento, bastoncini mobili, con poca tendenza alla sporulazione. In agar anerobio, coloniette talvolta classicamente aperte.

In tre caviè, fu iniettato rispettivamente :

- 1°) *frammento di milza* ;
- 2°) *brodo-coltura di milza* ;
- 3°) *una colonia in agar*.

Le prime due caviè presentarono una fortissima perdita di sostanza, ch , dal punto iniettato (*ipogastrio*), si estese a circa $\frac{2}{3}$ della parete addominale. All'escara umida formatasi tenne dietro la detersione e la guarigione lentissima della vasta piaga (da 25 a 32 giorni): nell'intervallo di tempo, gli animali dimagrarono profondamente.

L'insemenzamento aerobico del frammento di milza di  luogo allo sviluppo di un cocco non fondente che, iniettato, non produsse sulla cavia alcun fenomeno degno di riguardo.

La 3^a cavia present  malessere, pelo irto, lieve arrossamento della parte ed una piccola vescicola.

All'autopsia dei tre animali, eseguita 36, 42 e 49 giorni di distanza, non si rilevarono fatti degni di menzione.

Del germe isolato, sar  tenuto parola in appresso.

Il caso sembrami molto interessante, per il fatto che un germe, isolato dai visceri subito dopo la morte, germe che molto verosimilmente doveva avere avuto sullo svolgimento dell'infezione acutissima una parte non trascurabile, sia risultato innocuo per un'animale, s  altamente sensibile, come la cavia. Ed aggiungiamo un altro particolare non privo di interesse.

Nel ferito, ad ore 17 del 22 agosto 1917, 23 ore prima della morte avvenuta il 23 agosto ad ore 16, era stata praticata l'emocoltura, che il 24 agosto risult  positiva, coi seguenti caratteri: *bastoncini mobili, con disposizione al filamento, non sporificati, a chemismo non putrido*.

Il 25 agosto, una cavia iniettata con $\frac{1}{2}$ cc. di brodo-coltura, sopravvisse.

Per cause indipendenti dalla nostra volont , il materiale di emocoltura and  perduto; ci astenemmo quindi dal tener conto dei risultati dell'esame sommario fatto e non comprendemmo questa fra le 36 emoculture dei casi mortali.

Aggiungiamo infine che dai tessuti di questo ferito fu isolato un germe coi caratteri di quello rilevato nella emocoltura

ed identico a quello isolato dalla milza; inoltre, uno stipite di *perfringens*, patogeno e dei cocchi.

Dato tale reperto, si potrà osservare che la presenza del *perfringens* bastava a spiegare la morte e noi non abbiamo argomenti da opporre a simile tesi. Ma d'altra parte, è logico negare all'anaerobio, isolato dalla milza e proveniente verosimilmente dalla ferita, ogni responsabilità, solo pel fatto che esso si dimostrò scarsamente patogeno per la cavia?

Non credo che alcuno si senta autorizzato a rispondere affermativamente. Ed allora, non è verosimile dedurne che tale germe sia stato compartecipe dell'azione infettante? Se riteniamo che l'infezione rappresenti un processo, nel quale il germe, preso a sè, non sia che uno dei fattori, capace di venire influenzato dalle condizioni ambientali e se immaginiamo che queste possano costituirsi nel senso sfavorevole all'organismo, non è inconcepibile come un germe possa acquistare una virulenza, abitualmente non posseduta, o, quanto meno, non esplicabile in condizioni usuali.

Prospettato in tal guisa, il criterio della patogenecità del germe perde alquanto del suo carattere assoluto.

SEZIONE II.

Ricerche sui tessuti.

Nei 69 casi studiati la flora microbica viene così ripartita:

Flora mono-microbica Casi N. 0

Flora poli-microbica Casi „ 69

I germi della flora poli-microbica figurano nel modo che segue:

Gruppo A) *Flora mista (aero-anaerobica)* N. 56

„ **B)** *Flora anaerobica pura* N. 10

„ **C)** *Flora aerobica pura* N. 3

Facciamo subito osservare che i 10 casi di flora anaerobica pura appartengono in massima parte ai casi mortali.

I tre casi di flora aerobica invece appartengono ai casi di ferite putride, le quali ebbero andamento benigno.

Gruppo A: Flora aero-anaerobica (mista) Casi n. 56.

1° *Aerobi*). — Lo *streptococco* figura nella percentuale del 55,3 % (32 volte) dei casi, ora solo, il più delle volte associato ad altri germi aerobi. La

forma più frequente, sotto la quale ci venne dato riscontrarlo, fu quella in lunga catena, di incostante virulenza pel coniglio (iniezione endo-venosa ed endo-peritoneale). Molto più raramente, il germe fu riscontrato in breve catenella o a *diplococco*.

Lo *stafilococco* fu trovato nel 32,1 % (28 volte) dei casi, quasi sempre nella varietà *aureo*.

Una volta fu trovato un bacillo coi caratteri del *coli*; 17 volte un germe del gruppo *proteo*.

2°) *Anaerobi*. — I 56 casi comprendono:

1.° Sottogruppo. — *Anaerobi patogeni* con varia frequenza associati ad *anaerobi non patogeni* e ad *aerobi* (41 casi).

2.° Sottogruppo: *Anaerobi non patogeni* associati a soli *aerobi*.

1.° Sottogruppo. — *Anaerobi patogeni* associati a non patogeni e ad aerobi.

Gli anaerobi non patogeni, o scarsamente virulenti, si trovarono con frequenza associati ai germi patogeni e di essi sarà fatto cenno a parte; ci interesseremo quindi subito dei casi a flora anaerobica patogena. Essi vengono compendianti come segue:

N. 41 Casi { *Anaerobi* (1) } Flora mono-anaerobica = 12 volte
 { *patogeni* } Flora poli-anaerobica = 29 volte

In questi 41 casi furono trovati:

B. del gruppo perfringens (soli od associati) 36 volte = 87.8 %

B. dei gruppi I, II, III, IV (soli od associati) 29 volte = 70 %

B. del gruppo novy (soli od associati) 5 volte = 12.1 %

2.° Sottogruppo. — *Anaerobi non patogeni* associati a soli aerobi.

N. 15 casi { *Anaerobi risultati poco o* } Flora mono-anaerobica = 3 volte
 { *punto patogeni (1) non as-*
 { *sociati ad anaerobi pato-*
 { *geni.* } Flora poli-anaerobica = 12 volte

In questi casi figurano:

B. del 1° Gruppo putrefacente 5

 " 2° " 4

 " 3° " 1

B. del gruppo perfringens 3

B. del gruppo putrificus Bienstock 3

B. sporogenes 4

B. non putrefacente M. F. 1

Gruppo B: Flora anaerobica pura (n. 10 casi).

Mono-anaerobi = 3 volte { Gruppo *perfringens* 2
 patogeni { Gruppo *vibrione* . . 1

Poli-anaerobi = 7 volte { Gruppo *perfringens* 6
 patogeni { Gruppo *vibrione* . . 3
 { Gruppo *Novy* . . . 1

(1) Con riferimento alla *cavia* ed al *topo di fogna*, che si dimostrano gli animali più ricettivi.

Gruppo C: Flora areobica pura (n. 3 casi, tutti a flora polimicrobica).

In questi 3 casi la flora era rappresentata da *cocchi* (3 volte), da un germe del gruppo *coli* (1 volta), da germi del gruppo del *proteo* (2 volte).

Riassunto.

Sopra 69 casi	Flora mista	n. 56 = 81 %
» » »	Flora anaerobica pura	n. 10 = 14 %
» » »	Flora aerobica pura	n. 3 = 4,3 %.

Percentuale degli anaerobi = 95,6 % { Mono-anaerobi = 27,2 % (18 casi).
 Percentuale degli aerobi = 84,6 % { Poli-anaerobi = 72,8 % (48 casi).

Mortalità.

Casi a flora mista N.º 38 su 56 = 67,8 %.

Casi a flora anaerobica pura N.º 7 su 10 = 70 %.

Casi a flora aerobica pura N.º 0 su 3 = 0 %.

Da questi dati risulta:

- 1º) che la flora delle infezioni gassose è essenzialmente poli-microbica.
- 2º) che la flora mista (aero-anaerobica) predomina (81 %).
- 3º) che agli anaerobi è devoluto quasi totalmente il quadro anatomico e la fenomenologia delle vere infezioni gassose.
- 4º) che gli aerobi non influenzano in modo molto sensibile le condizioni create dagli anaerobi altamente patogeni.

Gruppo A.

1º sottogruppo - a) *Anaerobi patogeni* (associati a non patogeni).

Riguardo alle cifre della mortalità ed ai rapporti, che con quest'ultima hanno le singole specie di germi isolati, non è possibile un computo esatto, causa l'alta percentuale dei casi a flora polianaerobica (70,7 % nella flora mista), altamente patogena.

Riportandoci ad alcuni dati, potrebbe dedursi che al gruppo del *vibrione* va riferita una percentuale considerevole e ciò per le seguenti considerazioni:

1º) per l'alta cifra delle emocolture positive dei casi mortali globali (15 su 36 = 41,6 %).

2º) per l'alta mortalità dei casi nei quali i germi di questo gruppo si trovarono presenti nella ferita, *associati* (27 volte) o *soli* (6 volte).

Sopra i 33 casi globali, 20, e cioè il 66 %, finirono con la morte, col 75 % di emocolture positive (15 su 20).

Nei 6 casi nei quali il germe si trovò quale unico anaerobio (flora mista = 5 casi, flora anaerobica pura = 1 caso), la morte sopravvenne 4 volte (66,6 %); una volta la guarigione si verificò dopo l'amputazione della coscia: nel secondo caso, trattavasi di un soldato, ferito il 27 settembre 1917 all'avambraccio sinistro. Il proiettile, una scheggia di granata, aveva prodotto una ferita a canale completo, fratturando il radio e recidendo l'arteria radiale.

Il 28 settembre notavasi: mano fredda, scura, con enfisema notevole al dorso: attraverso un'incisione praticata nelle parti molli della regione

metacarpea, si trovarono le vene superficiali trombizzate. Da questa linea di taglio fuoriusciva liquido lievemente rosso, quasi limpido, contenente bastoncini lunghi, con tendenza al filamento, nettamente mobili.

Il giorno 29 le condizioni locali si aggravano ed il processo tende a diffondersi all'avambraccio (fittene, chiazze rameiche, gas). Il ferito accusa dolore e manifesta notevole ambascia: P. 128-135; R. 40.

Ad ore 15 viene eseguita l'amputazione dell'avambraccio al 4° superiore (46 ore dopo la ferita).

30 settembre - Condizioni generali discrete: localmente, lieve edema del moncone di amputazione, non suturato. Dall'1 al 7 ottobre si ha progressivo miglioramento nelle condizioni generali e fatti di lievissima suppurazione nel moncone, che accennano a scomparire nei giorni 8 e 9.

Il giorno 10 ottobre il ferito viene sgomberato su posizione meno avanzata, in condizioni molto soddisfacenti.

Non se ne ebbero ulteriori notizie. Il punto di partenza per le ricerche batteriologiche di questo caso fu il liquido di edema del dorso della mano: con questo si ottenne in brodo uno sviluppo *anaerobico purissimo*.

Il germe fu studiato nelle caratteristiche morfologiche, colturali, biologiche e sperimentali, in base alle quali esso può venire così sintetizzato:

a) **Colonia** - In agar: forma tipica: spiccatamente *aperta*; la forma atipica, rara, consiste nella forma ritratta dalle figure 5 - 6 della pag. 576.

b) **Germe**: lungo da 5 a 8 μ ., spesso in filamenti nelle colture liquide, sempre in filamenti lunghissimi nel peritoneo (fig. 8), alla superficie del fegato, nell'urina (fig. 7); fortemente gassogeno nei mezzi colturali ed ancor più spiccatamente nei tessuti; sporigeno nei mezzi artificiali liquidi, con tendenza alle forme degenerative; saccarolitico efficace, mediocrissimo proteolitico (fonde lentamente ed incompletamente la gelatina, non ha alcuna azione sul siero coagulato); coagula rapidamente a spugna il latte, con coagulo fortemente retratto; non annerisce il cervello.

Altamente patogeno per *cavia*, *topo* di fogna e *coniglio*, ne provoca la morte talvolta in 4 ore, con edema emorragico sottocutaneo, muscoli rossi, umidi, aereati, talvolta rammolliti, marcatissimo enfisema del cellulare retro-peritoneale, della sottosierosa intestinale e gastrica; presenza di lunghissimi filamenti nel peritoneo ed alla superficie dei visceri addominali (fig. 8, pag. 576) e nella bile.

In base a questi caratteri, parvemi potere omologare il germe specialmente a quelli del 2° gruppo.

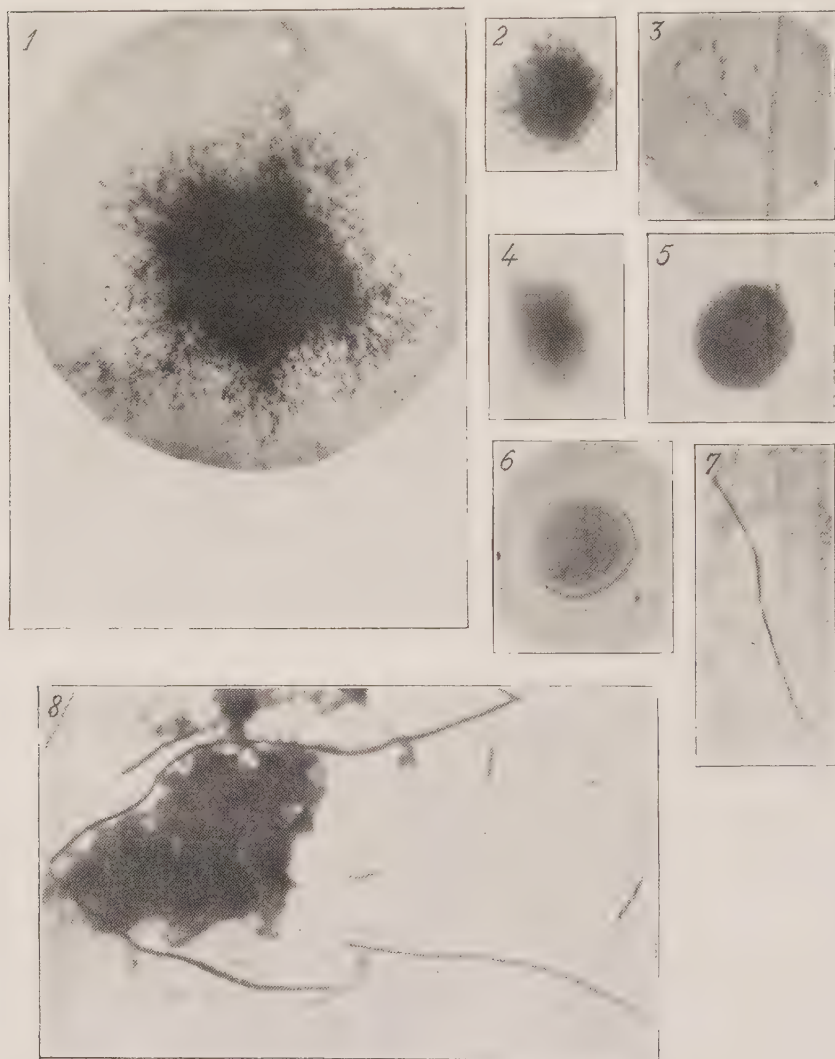
Aggiungiamo qualche notizia retrospettiva: la dissezione del segmento amputato confermò la lesione dell'arteria radiale e mise in evidenza la trombosi di lunghi tratti di vene superficiali e profonde: il trombo non si presentava aereato.

L'esame batteriologico e colturale di un frammento di muscolo del flessore profondo comune delle dita, rivelò la presenza del germe descritto.

Per l'identificazione precisa, si ricorse alla prova dell'agglutinazione ed

a quella della neutralizzazione, col siero *anti-vibrione settico* e con quello *anti-edema maligno*.

1.^o Agglutinazione. — Col siero agglutinante *anti-vibrione*: molto incerta alla diluizione 1×50 .



2.^o Neutralizzazione. — Il siero antitossico *anti-vibrione settico* salva l'animale; il controllo muore in 12 ore.

Il siero *anti-edema* prolunga la sopravvivenza, ma non salva l'animale (morte dopo 21 ore - reperto batterioscopico scarsissimo nel peritoneo e nel cellulare - emocultura positiva dopo 12 ore).

Nei 44 casi nei quali si trovò presente il *B. perfringens* patogeno, associato (35 volte) o isolato (9 volte), si verificarono 21 esiti letali = 47,7 %. La percentuale di mortalità, nei casi nei quali il germe trovavasi quale unico anaerobio patogeno, fu sensibilmente inferiore a quella dei casi ove presentavasi accoppiato (33,3 % contro 52 %) ad altri anaerobi. Sopra 21 emocolture con presenza del germe nella ferita, 12 volte si verificò il passaggio nel sangue (57,1 %): come pei germi dei primi 4 gruppi patogeni, la presenza del germe nel sangue fu accompagnata da morte.

Sei volte fu isolato un germe che, per i caratteri morfologici e colturali, ricordava molto da vicino il *bacillo oedematiens* di WEINBERG e SÉGUIN, omologato dagli A.A. stessi al *B. Novy*.

Nella riproduzione sperimentale notai per 3 stipiti un quadro non strettamente uniforme, in quanto, con uno stesso stipite e nello stesso animale, ora ebbi a rilevare il tipico edema gelatinoso pallido del sottocutaneo ed intermuscolare, ora edema gelatinoso-emorragico nella profondità dello strato muscolare: il fatto si verificò tanto per l'iniezione sotto-cutanea che per l'intramuscolare.

I germi di questa specie rispondono ai seguenti caratteri.

a) **Colonia.** — In agar tipicamente aperta, con lunghe ramificazioni irradianti da un centro che dapprima compatto e denso si rarefa gradualmente nella parte centrale, mentre si addensa verso la periferia. La colonia facilmente si ottiene in agar fatto con brodo al fegato, preferibilmente glucosato: lo sviluppo è strettamente anaerobio, nell'ambito della terza piastra.

In nessun caso mi fu dato riscontrare colonie chiuse della foggia atipica, già descritta per altri gruppi.

b) **Germe.** — Per i caratteri morfologici e colturali rimando alla descrizione fatta a proposito del *B. oedematiens*, pag. 443). A segnalarsi, in quattro dei sei stipiti, una lieve mobilità, rilevabile nel liquido sottocutaneo, e, meglio, nel liquido peritoneale.

L'identificazione del germe in tali casi fu ottenuta col trapianto diretto del liquido patologico in agar, ove si ottenne quasi sempre sviluppo puro delle colonie tipiche.

Nei tessuti dell'animale appena morto raramente trovai il germe sporificato e soltanto mi fu dato osservare il fatto per uno degli stipiti (A.S.)

Come sopra fu accennato, con una certa facilità si constatò edema emorragico, abbastanza evidente nel cellulare sottocutaneo: inoltre, liquido rosso limpido, nel peritoneo.

Per tutti sei gli stipiti ebbi a notare: presenza del germe nel cellulare, nel liquido peritoneale, alla superficie della sierosa e dei visceri addominali: non riscontrai mai filamenti, ma solo bastoncini isolati o in corta catenella.

L'emocultura della *cavia* riuscì costantemente e rapidamente positiva; lo sviluppo fu più stentato nell'emocultura del *coniglio*: nel *pulcino*, riuscì per lo più negativa.

Per l'identificazione del germe, ricorsi alla prova della neutralizzazione, col siero *antitossico* favoritomi dal chiar.mo Collega Dottor WEINBERG; i risultati vengono qui riassunti:

STIPITE		INIEZIONE SOTTO CUTANEA					sopravvive
R.M.	Cavia di gr. 500	0,5 cc. coltura	0,5 cc. siero				
S. A.	» 360	0,5 »	» » » »				»
B. I.	» 280	0,5 »	» » » »				»
G.O.	» 310	0,0 »	» » » »				»
N.E.	» 520	1 »	» » » »				»
A.R.	» 480	1 »	» » » »				»

I controlli morirono tutti entro le 18 ore. Il germe fu trovato 4 volte associato ad aerobi ed anaerobi patogeni (*B. perfringens* 3 volte, o *B. del 4° gruppo* - 1 volta) e ad *anaerobi putrificanti*; 2 volte fu riscontrato quale unico *anaerobio* patogeno, associato ad *aerobi* della suppurazione ed al *proteo*.

I casi di morte con presenza del germe in associazione anaerobica patogena furono 3 su 4; nei due casi nei quali il germe presentavasi unico anaerobio, si ebbe 1 esito letale: in tutto, quindi, 4 casi di morte sopra sei osservazioni.

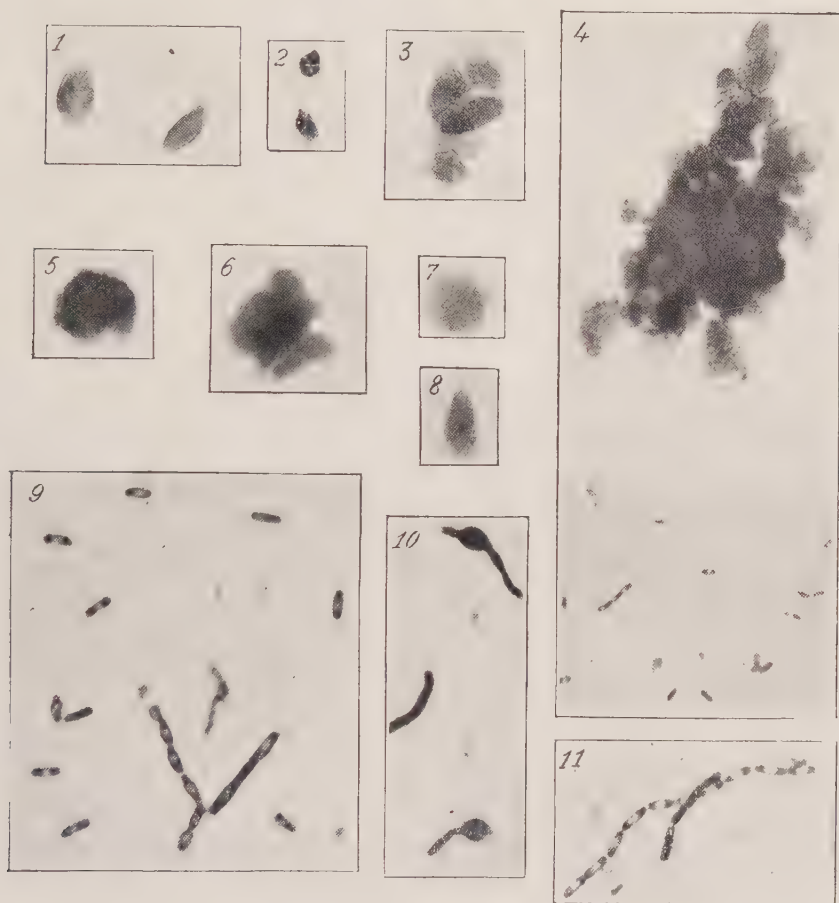
L'emocultura *in vivo* fu eseguita in uno solo dei sei casi; essa riuscì negativa. Il ferito tuttavia venne a morte (N. E. 18 giugno 1916).

b) *Anaerobi non patogeni* associati ai patogeni.

Come sopra fu accennato, agli anaerobi patogeni con frequenza si trovarono associati anaerobi provvisti di scarsissima virulenza per gli animali da esperimento. Bene spesso trattavasi di anaerobi *putrefacenti*, dei quali, alcuni poterono venire identificati con quelli del 2° sotto-gruppo, specialmente collo *spirogenes* (6 volte) e col *putrificus* (5 volte): altre volte l'identificazione non fu possibile in modo esatto e fu necessità limitarci alla messa in rilievo dei caratteri più importanti (*chemismo* e *virulenza*). Tra questi anaerobi non patogeni, associati ai patogeni, figura il germe isolato dalla milza; nella ferita esso trovavasi associato al *B. perfringens*: di esso diremo a parte, non sembrandoci il caso privo di interesse (Sezione III).

Nella flora mista dei 56 casi, figura un germe, isolato da una ferita putrida; esso si trovava associato al germe del I° gruppo *putrefacente* ed a *cocchi*.

Questo germe cresce, elettivamente, in brodo anaerobico TAROZZI dove ha sviluppo rigogliosissimo e sporifica abbondantemente, specialmente nel brodo non glucosato. Nel brodo aerobico di bue ha stentato sviluppo; nel brodo di cavallo, invece, lo sviluppo è più vivace, con sporulazione caratteristica.



I trapianti della colonia agar anaerobica in brodo di bue aerobio, riescono quasi sempre negativi; mentre il trasporto dall'agar nel brodo TAROZZI fu seguito sempre da sviluppo rapido, con tutti i caratteri che verremo enunciando.

Infine lo sviluppo delle tipiche colonie in agar anaerobico si ottiene o nell'ambito della piastra interna o nella profondità dell'agar, all'esterno della piastra stessa.

Nell'agar aerobico lo sviluppo, stentato, si osserva soltanto nello spessore del mezzo. In gelatina aerobica su piastra, non fu possibile ottenere sviluppo a temperatura di 16°; ugualmente, nella gelatina anaerobica. Nella gelatina anaerobica in alto strato si ottenne lo sviluppo di poche coloniette isolate, delle

quali la più superficiale, distante circa 1 millimetro dalla superficie della gelatina.

Pel complesso di questi caratteri il germe, pur non potendo venire classificato tra gli anaerobi, deve essere considerato come un germe a sviluppo *anaerobio prevalente*.

a) **Colonia.** — Agar anaerobico. — Coloniette chiuse, rotondeggianti o leggermente ellittiche, con margini bene marcati, centro irregolarmente granuloso e denso (fig. 1, 2, 3, pag. 579); il più spesso provviste di un ciuffetto di peli; più di rado sono del tutto nude (fig. 5). Non infrequentemente esse si uniscono in un ammasso elegantissimo quale è rappresentato dalla fig. 4. Lo sviluppo di gas è molto scarso ed avviene sotto forma di minutissime bollicine.

In agar aerobico lo sviluppo è oltre modo stentato e le poche colonie si hanno nello spessore del mezzo nutritivo: anche qui possiamo assistere alla riunione di parecchie coloniette (fig. 6), ma in proporzioni più limitate.

In agar VEILLON si ha formazione di bollicine di gas in quasi tutta l'altezza del tubo; difficilmente avviene la rottura dell'agar.

In gelatina ad alto strato per infissione lo sviluppo delle coloniette si arresta circa 1 millimetro sotto la superficie: le coloniette restano isolate: la gelatina non viene fusa.

Fluidificazione parziale si può osservare solo nell'inseminamento abbondante di gelatina glucosata al 2‰, dopo che la coltura si è rigogliosamente sviluppata in termostato.

b) **Germe.** — 1° *Forma e dimensioni.* — In agar: bastoncino di $\mu 1 \times 4,6-6$, non uniformemente colorabile, diritto, più raramente ricurvo; mai in filamento, spesso con spora immatura, rigonfia.

La spora si presenta, con frequenza, libera, nella tipica catenella (fig. 4 pag. 579, in basso).

Nel sottocutaneo e nel peritoneo degli animali (v. appresso), il germe è alquanto più sottile, e presentasi il più spesso isolato od appaiato.

Nell'agar con facilità si trovano spore immature, rigonfie, sferoidali, più frequentemente centrali, ma talvolta anche paraterminali (fig. 10).

La sporificazione si riscontra, oltre che nei mezzi di coltura artificiali, anche nei tessuti animali.

2° *Colorabilità.* — Gram-positivo, nelle forme vecchie notasi decolorazione parziale; il germe si colora bene ed uniformemente colla fucsina.

3° *Sporificazione.* — Vivace ed abbondante in tutti i mezzi, preferibilmente liquidi, glucosati o no.

La spora per lo più è centrale, più raramente paraterminale. La sporificazione è abundantissima nel liquido ascitico (fig. 11, pag. 579) e nel brodo non glucosato. Marcattissima è la tendenza della sporificazione a catena anche nell'agar. La spora è lunga fino a 3μ e larga da $1,4$ a $1,8 \mu$.

Oltre che nei comuni terreni (*siero, latte, cervello ecc.*) la sporificazione è vivacissima nella *bile di bue*, specialmente anaerobica.

4° *Mobilità.* — *Ciglia.* — Nei terreni di coltura il germe appare molto scarsamente mobile; i movimenti sono elicoidali e di traslazione.

Nei liquidi patologici (liquido peritoneale), la mobilità è pure molto scarsa.

5° *Resistenza.* — Molto notevole al calore, scarsa agli antisettici (acido fenico).

6.^o *Caratteri colturali*. — Come sopra fu detto, il brodo TAROZZI con o senza glucosio, costituisce il miglior terreno colturale; il brodo aerobio di muscolo di cavallo serve pure bene. Nella descrizione che segue, ci riferiremo ai caratteri del germe nel brodo anaerobio.

Brodo glucosato. — Sviluppo rigoglioso nelle 24 ore, con intorbidamento lieve e sviluppo cospicuo di gas: il germe si sviluppa nella sua tipica forma o sporula nelle modalità sopra dette. Il colorito del brodo non subisce modificazioni apprezzabili, il frammento di fegato non è annerito nè aereato. Dalla coltura emana, però, odore fetido abbastanza forte, acidificazione abbastanza evidente.

Brodo non glucosato. — Sviluppo presso a poco analogo al precedente, intorbidamento intenso, gas scarso, sporulazione. Il colorito del brodo tende al verdastro; il frammento annerisce lievemente. Odore fetido, intensissimo, reazione alcalina, produzione di H^2S , tracce di indolo. (La fig. 19 della pag. 579 si riferisce ad una coltura di cavia).

Liquido ascitico. — Sviluppo con gas, fortissima sporulazione, con spore a catena; (fig. 11). Odore fetido; reazione alcalina.

Latte. — Coagulazione in grumi molli; lento ed incompleto dissolvimento; separazione di liquido semi-limpido: acidificazione.

Pappa di cervello. — Acidificazione molto lieve, lievissimo annerimento.

Sangue umano. — Nessuna laccatura; lievissima emolisi nelle 72 ore.

Bile glucosata. — Decolorazione, sviluppo rigoglioso, sporulazione, acidificazione. Il germe si moltiplica rapidamente.

Siero di bue coagulato. — Parzialissima, tardiva digestione al fondo, odore alquanto fetido; acidificazione debolissima.

Liquido di Zacherl. — Viraggio in giallo arancione nelle 24 ore: acidificazione.

Gelatina glucosata. — Seminazione abbondante; fluidificazione molto lenta.

Gelatina non glucosata. — Sviluppo molto lento; talvolta assenza di fluidificazione.

7.^o *Proprietà saccarificanti*. — Acidificazione intensa del glucosio; meno, del levulosio, lattosio e galattosio: intorbidamento scarso, poco o punto gas: acido lattico.

8.^o *Proprietà patogene*. — Colla inoculazione di coltura in brodo glucosato, di brodo di cervello, di siero coagulato, alla dose di 2-3 cc. per cavie di 360-420 grammi, si osservano inconstantemente fatti locali, quasi sempre sotto forma di una vescicola ripiena di liquido ematico.

9.^o *Prodotti*. — La coltura totale ha scarsissimo potere emolitico pei globuli rossi umani.

10.^o *Effetti delle inoculazioni sperimentali*. — Per questi rimandiamo al capitolo II della parte V^a.

2.^o *Sottogruppo*. — *Anaerobi non patogeni non associati ai patogeni*. — Furono riscontrati in 15 casi dei 56 della flora mista (aero-anaerobica). Ad essi si riferiscono le 11 emocolture coi 5 casi positivi.

Dei germi che figurano in questo sottogruppo, abbiamo per molta parte già accennato (1.°, 2.° e 3.° gruppo putrefacente); aggiungiamo che furono isolati anche tre germi rispondenti ai caratteri del *B. perfringens*, distinti col N. 2, 7 e 8 della nostra raccolta. Questi germi non si dimostrarono patogeni, neppure se inoculati ad alte dosi.

Dei restanti, alcuni furono identificati col gruppo del *putrificus* di BIENSTOCK, altri collo *sporogenes* di METCHNIKOFF.

Non esattamente identificato fu un germe anaerobio stretto, non putrefacente, isolato assieme al germe del 2.° gruppo putrefacente (Sold. M. F. con frattura e ferita putrida della gamba sinistra).

Il germe M. F. corrisponde ai seguenti caratteri:

Anaerobio stretto, forma in agar una colonia chiusa a lobature grossolane; talvolta però le lobature sono più piccole e numerose, in modo che la colonia assume l'aspetto di un ammasso di globetti, granulosi; scarsissimo lo sviluppo di gas e nulla la produzione di acqua di condensazione.

Il germe si presenta sotto aspetto di bastoncino esile e piuttosto lungo ($0,6 \times 4 \mu$); Gram-resistente, mobile, scarsissimamente sporigeno, con spora oblunga, paraterminale.

Nel brodo TAROZZI glucosato. — Gas, lieve intorbidimento; acidificazione; nessun odore.

Nel brodo TAROZZI non glucosato. — Sviluppo più stentato, nessun odore; nessun cambiamento di colore del liquido; sporificazione scarsissima.

Latte. — Acidificazione intensa; coagulazione lentissima ed incompleta.

Bile di bue glucosata. — Acidificazione e sporificazione.

Liquido di Zacherl. — Viraggio in giallo arancione.

Siero di bue coagulato. — Acidificazione; nessuna digestione; nessun annerimento.

Pappa di cervello. — Acidificazione; nessun annerimento.

Gelatina glucosata. — Sviluppo con molto gas; nessuna fluidificazione.

Delle *proprietà patogene* diremo in appresso.

Gruppo B.

Nella flora anaerobica pura dei 10 casi di questo gruppo, il più spesso si trattò di flora *poli-anaerobica*: il *B. perfringens* fu preponderante, sia solo, che associato; anche il gruppo del *vibrione* è considerevolmente rappresentato. Clinicamente questi casi si distinsero per la particolare violenza del decorso, con qualche esito letale a scadenza di poche ore (sold. austriaco B. I. morto in 26 ore - 9 ottobre 1917).

In 4 di questi 10 casi: associato al germe patogeno fu riscontrata la presenza di anaerobi non patogeni.

Gruppo C.

Dei tre casi, uno appartiene ad una osservazione di ascesso gassoso; assieme allo *streptococcus longus* fu isolato un germe del gruppo *proteo*.

SEZIONE III.

Reperti di autopsia.

Come fu detto nella parte generale, l'autopsia completa fu eseguita soltanto in 2 degli 11 casi; 9 volte fu necessità limitarci alla cavità addominale e toracica: 8 volte fu eseguita a pochi minuti di distanza dal decesso (5'-15'). Le colture aerobie ed anaerobie furono allestite quasi esclusivamente dal fegato e dalla milza, più raramente, dal polmone (Caso S. dal 4° gruppo).

Particolarmente interessante mi parve l'autopsia precoce, allo scopo di delucidare alcuni punti controversi, quale ad es.:

1°) *Eventuale aereazione vitale o preagonica dei visceri-addominali.*

2°) *Presenza del germe nei visceri.*

Al primo quesito, fu già risposto ed in senso negativo, per quanto riguarda gli otto casi di autopsia precoce, mentre visceri fortemente schiumosi si rinvennero in due dei tre casi di autopsia tardiva (O. e B.).

Nei riguardi del 2° quesito, notiamo quanto segue:

Sei degli otto casi di autopsia precoce appartenevano ai primi 4 gruppi ed in tutti la coltura anaerobica della milza e del fegato risultò positiva pel germe isolato *in vivo* dal sangue; in due casi (B. e P.) oltre l'*anaerobio*, fu isolato lo *streptococco*, 1 volta dal fegato e dalla milza; 1 volta, solo dal fegato.

Del materiale di coltura quello del fegato si dimostrò il più adatto, fornendo uno sviluppo rigogliosissimo talvolta anche dopo 3 ore.

Dei restanti due casi, una volta fu eseguita la sola coltura della milza, con reperto positivo per il germe, del quale già accennammo e sul quale ci intratterremo brevemente in appresso (sold. O. V.): una volta risultò negativa, analogamente all'emo-coltura *in vivo* (sold. P. E.).

Nei tre casi di autopsia tardiva, la coltura risultò sempre positiva: ad uno di questi, appartiene il caso di metastasi (sold. O.).

Riassumendo quindi: Sopra 8 autopsie precoci (5'-15' dopo la morte) 7 volte si ebbe coltura positiva, non solo, ma fu possibile anche rilevare la presenza del germe dai preparati a striscio, dal fegato, dalla milza, dal polmone (sold. S. - gruppo 4°),

talvolta con difficoltà (Gruppo I. fig. 1, pag. 490), talvolta con molta facilità (sold. S.).

Il *fegato* e la *milza* fornirono quasi sempre sviluppo anaerobico puro; dal *polmone*, ebbesi sempre sviluppo di flora mista.

È a segnalarsi un fatto che potrebbe presentarsi in contrasto con altre osservazioni e cioè la presenza del solo anaerobio patogeno nei visceri, anche quando nella ferita esistevano anaerobi non patogeni. Il fatto potrebbe sembrare in antitesi colle osservazioni della presenza del solo anaerobio non patogeno stabilite da noi e da altri (WEINBERG e SÉGUIN). La spiegazione potrebbe trovarsi nella circostanza che i casi, ai quali si riferiscono le nostre osservazioni, furono tutti rapidissimamente mortali in un periodo di tempo, cioè, non del tutto confacente all'entrata in circolo di germi ritenuti saprofiti. Facciamo però notare, che, se tale spiegazione può sembrare logica, non ha tuttavia carattere assoluto; infatti in uno dei casi di infezione a tipo putrido, non mortale, l'emocultura, eseguita nel giorno successivo alla ferita (da 24 a 26 ore dopo - sold. M. F. 2° gruppo putrefacente), risultò positiva: in questo caso esisteva un considerevole maciullamento delle parti molli della gamba, con fatti icorosi avanzatissimi.

Sopra 3 autopsie tardive, la coltura dei visceri risultò costantemente positiva. Oltre i germi anaerobi, in massima parte *cocchi*, in un caso, ebbesi un germe del gruppo *proteo*.

Caso di autopsia precoce.

SOLD. O. V. — Ferita da shrapnell con frattura delle ossa della gamba e lesione dell'arteria tibiale posteriore. Morte dopo 73 ore col quadro edematoso classico.

Autopsia eseguita 5' dopo la morte.

Fegato. — Fortemente aumentato in volume, scuro, non crepitante.

Milza. — Ingrossata, rosso-scuro in superficie, rosso-minio al taglio.

Bacterioscopia del tessuto splenico. — Bastoncini di dimensioni non uniformi, *Gram-resistenti*.

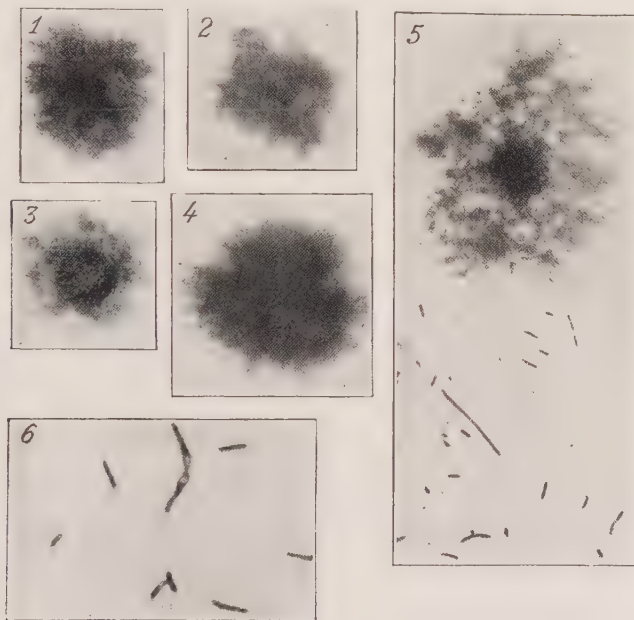
Coltura anaerobica TAROZZI. — Dopo 18 ore, enorme quantità di gas che raggiunge l'estremità superiore della provetta — Odore scarsissimo; nessuna modificazione del colorito; intorbidamento abbondante: acidità intensa. In goccia pendente: germi mobili; sul preparato a secco: germi *Gram-positivi*.

Sulle piastre di agar anaerobico, sviluppo di gas; assieme alle colonie

delle quali sarà tenuto parola in appresso, ebbesi anche sviluppo di un coeco non fondente.

Il germe isolato dalla colonia in agar, risponde alle caratteristiche seguenti:

a) **Colonia.** — In agar: sviluppo strettamente anaerobico; le colonie, in numero limitato, crescono nell'ambito della piastra interna; gas in discreta quantità, nessun'acqua di condensazione: scarsissimo odore. La colonia è a tipo aperto; possiede quasi sempre un bel nucleo centrale giallognolo, denso,



lievemente granuloso, a margini quasi netti, attorniato da un intreccio di filamenti piuttosto densi e di mediocre lunghezza: ad occhio nudo quindi la colonia appare sotto forma di ammasso rotondeggiante, denso, a margini marcati e solo alla lente risalta il groviglio filamentoso di cui sopra. Le colonie sono di dimensioni uniformi, del diametro massimo di circa 1 millimetro.

Più raramente la colonia è rappresentata da un nucleo, attorniato da un denso strato filamentoso.

Coll'invecchiare, il nucleo centrale risalta spesso con maggiore evidenza pel diradarsi della zona filamentosa e, verso la periferia di questa, spiccano allora piccoli ammassi più densi, come è rappresentato dalla figura 5, qui sopra.

La colonia molto raramente si presenta col tipo semi-aperto e cioè con un nucleo centrale, o attorniato da scarsi e corti filamenti, o portante un ciuffo di peli.

b) **Germe.** — 1.° *Forma e dimensioni.* — In agar: bastoncino ora diritto, ora ricurvo, ad estremità arrotondate, lungo da 2 a 6, largo 0,65-0,70 μ ; il

più spesso isolato, talvolta appaiato o in corto filamento, omogeneamente colorato; scarsamente sporificato, il più spesso, la spora è libera.

In brodo non glucosato le dimensioni sono alquanto più ridotte. Non si rilevano forme degenerative; presenza di spore, col tipo paraterminale, rigonfie (fig. 6, pag. 585).

2.^o *Colorabilità*. — Nettamente Gram-resistente, anche nella coltura di qualche tempo: colla fucsina basica il germe riesce uniformemente ed intensamente colorato.

3.^o *Sporificazione*. — Manca o è scarsissima nel brodo glucosato. Nel brodo non glucosato, la spora è paraterminale, leggermente rigonfia, con tendenza a farsi libera; le sue dimensioni sono: $0,5 \times 2 \mu$, con colorazione bipolare netta.

4.^o *Mobilità*. — *Ciglia*. — Il germe possiede qualche movimento elicoidale molto lento; non si avvertono movimenti di traslazione: la dimostrazione delle ciglia riesce indaginoso ed incerto.

5.^o *Resistenza*. — Muore a 60° - 62° ; le spore resistono a 95° .

6.^o *Caratteri culturali*. — In brodo glucosato: sviluppo abbastanza rigoglioso, gas in modica quantità, intorbidamento scarso; sedimentazione lenta, con deposito tenue, finissimamente fioccoso: acidificazione; nessun cambiamento di colorito del liquido nè del frammento.

In brodo non glucosato, lo sviluppo è più stentato.

Latte. — Acidificazione di grado discreto.

Pappa di cervello. — Tardiva, lieve acidificazione: nessun annerimento.

Bile. — Acidificazione lievissima entro le 48 ore.

Liquido di Zacherl. — Lieve acidificazione; viraggio in giallo arancione.

Siero di bue coagulato. — Accenno a fluidificazione. La reazione non viene modificata.

Gelatina glucosata. — Lentissima acidificazione; fluidificazione incompleta.

Gelatina non glucosata. — Non viene fluidificata.

7.^o *Proprietà saccarificanti*. — Molto scarse.

8.^o *Proprietà patogene*. — Come già fu accennato, nella cavia in primo tempo (agosto 1917) venne inoculato:

1.^o *il materiale in toto*, e cioè un frammento di milza.

2.^o *il brodo di coltura di milza*.

3.^o *il materiale di colonia in agar*.

Gli animali non morirono, ma tutti e tre presentarono depressione, rifiuto al cibo, inoltre, nei primi due, si notò la estesa perdita di sostanza, già menzionata; nel terzo, si formò una vescicola, con edema circostante. All'autopsia, eseguita dopo il sacrificio degli animali, nessun fatto degno di nota: le emocolture e la coltura dal fegato risultarono negative.

Dopo queste prime esperienze, eseguite sul fronte carsico, lo studio fu ripreso nel marzo 1918, usufruendo, tanto della coltura in brodo della milza, come della brodo-coltura allestita colla colonia (fig. 5^a pag. 585).

Il germe, pur conservando pressochè imm modificata la sua vitalità, tanto da permettere l'inseminamento dei brodi, attraverso lunghi intervalli di tempo, costantemente con esito positivo, finì col perdere anche quella scarsa

virulenza, della quale aveva dato prova nelle esperienze iniziali. Numerosi esperimenti sulla cavia, istituiti ulteriormente, rimasero costantemente senza risultato.

In questi ultimi tempi vennero eseguite altre esperienze, approfittando di alcuni metodi di coltura speciali, ma senza effetti degni di nota.

Riassunto clinico-batteriologico.

I 69 casi da noi particolarmente studiati comprendono, come già fu detto:

N. 51 osservazioni di gangrena gassosa, il più spesso a tipo non putrefacente; talvolta a carattere putrido.

N. 5 osservazioni di flemmone gassoso, tra le quali un caso di flemmone a carattere putrido.

N. 13 ferite con piaghe putride.

La flora batterica delle 51 osservazioni di gangrena, 41 volta fu a tipo misto, ma con indiscutibile prevalenza degli *anaerobi* patogeni: 10 volte, fu anaerobica pura (patogeni soli od associati a non patogeni).

Nelle 5 osservazioni di flemmone gassoso circoscritto, 1 sola volta non fu riscontrata la presenza di anaerobi patogeni: nelle 4 altre osservazioni fu costantemente rilevata la presenza del *B. perfringens*, quale unico anaerobio virulento. La flora fu sempre poli-microbica. I cinque casi possono venire riassunti nel modo seguente:

N.°	STIPITI	FERITE	FLORA RISCONTRATA
1.	B. L.	Ferita da scheggia; parti molli - gamba sinistra.	<i>Perfringens</i> - <i>stafilococco</i> , un <i>diplococco</i> .
2.	B. O.	Frattura comminuta, da palletta di shrapnell, del perone sinistro.	<i>Perfringens</i> - <i>streptococco</i> .
3.	M. R.	Ferita trasfossa - parti molli avambraccio destro.	<i>Perfringens</i> - <i>streptococco</i> .
4.	G. A.	Ferita parti molli - regione sopra scapolare destra.	<i>Perfringens</i> - <i>stafilococco</i> .
5.	D. C.	Ferita al perineo.	<i>Streptococco</i> , <i>proteo</i> , un germe putrificante.

Di questi casi il N.° 2 ebbe decorso letale in 18^a giornata; l'emocultura in questo, come negli altri casi, riuscì negativa.

Le osservazioni di flemmone gassoso da noi fatte sono molto scarse e quindi non autorizzano a conclusioni decisive. Si può fare rilevare la quasi costanza del *perfringens* (4 su 5 casi) e la frequenza dello *streptococco* (3 su 5). Dei *perfringens* isolati, 3 stipiti dimostrarono considerevole virulenza, il 2° riuscì patogeno per la cavia, solo se iniettato in larga dose (coltura glucosata: 5 cc.).

WEINBERG e SÉGUIN sui 35 casi di flemmone gassoso studiato, trovarono il *B. perfringens* 21 volta (72%), 7 volte, quale unico anaerobio, 14 volte associato ora al *B. fallax*, ora allo *sporogenes*, ora al *B. oedematiens* (1 volta), ora al *B. del tetano* (1 volta - caso mortale per tetano). Gli AA. concludono col ritenere che la flora del flemmone sia presso a poca identica a quella della gangrena; mettono in evidenza l'assenza costante del *V. settico* e quella, quasi assoluta, del *B. oedematiens*, riscontrato una sola volta di fronte alla frequenza del *perfringens*.

Le nostre poche osservazioni ci rilevano la grande importanza del *B. perfringens*, quale anaerobio patogeno. I casi di flemmone gassoso da noi osservati si riferiscono al tipo classico, enfimatoso: 1 sola volta si trattò di flemmone putrido (Caso 5.° - ferita al perineo; associazione microbica).

L'assenza del *vibrione settico* da una forma clinica di relativa benignità depone indirettamente per l'alta importanza di questo germe quale agente di infezione mortale, come risulta dalla nostra statistica e come si rileva anche dai risultati di WEINBERG e SÉGUIN, i quali trovarono il germe in circolo durante la vita nel 100% dei casi mortali e constatarono il passaggio del germe nel sangue nel 60% dei casi.

Pure nei casi nostri, la presenza del germe in circolo, fu sinonimo di esito mortale: inoltre nell'75% dei casi, nei quali il germe trovavasi nella ferita, se ne verificò il passaggio in circolo.

Dai risultati di WEINBERG e SÉGUIN si rileva che la mortalità fu del 58,3%, nei casi di presenza globale del *vibrione settico* nella ferita e, che nell'unico caso, nel quale il germe esisteva nella ferita quale solo anaerobio, seguì la morte; tali risultati si avvicinano ai nostri. Dove discordano è nella percentuale di frequenza del germe nella ferita; poichè, mentre nei nostri casi, i primi 4 gruppi figurano nella cifra del 66% dei casi di gangrena gassosa, WEINBERG e SÉGUIN, non trovarono che il 13%.

Comunque voglia interpretarsi il fatto, notiamo che, nella statistica degli AA. francesi, la mortalità per *vibrione settico*, sia isolato, che associato, fu superiore a quella degli altri anaerobi patogeni, compreso il *B. oedematiens*; e tali risultati collimano con quelli da noi ottenuti.

Giudicando dai casi nei quali il *perfringens* presentasi nella ferita, quale unico anaerobio patogeno, si deve indurre che la cifra della mortalità ad esso addebitabile è sensibilmente inferiore a quella del *vibrione*: nella statistica di WEINBERG e SÉGUIN infatti essa è del 31%, nella nostra 47%.

La mortalità per *B. oedematiens*, inferiore a quella per *V. settico*, è però sensibilmente superiore a quella per *B. perfringens*.

A questi tre tipi di germi, spetta, secondo le ricerche di WEINBERG e SÉGUIN e secondo le nostre, il triste primato quali agenti della infezione

gassosa. Degli altri tipi dai due A.A. francesi descritti (*B. fallax*, *aerofetidus*, *histolyticus*) noi non abbiamo esperienza clinica e, pure rimettendoci alla grande autorità dei due insigni bacteriologi, non possiamo a meno di osservare che l'importanza di tali germi deve passare in seconda linea.

A conclusione di questo capitolo, stimo utile accennare alle ultime concezioni (1919) di FRÄNKEL e ZEISSLER circa la sistematica del *B.* del gruppo dell'*edema maligno*. Premesso di non essersi mai imbattuti nel tipo X di v. HIBLER, E. FRÄNKEL e ZEISSLER distinguono i bacilli di questo gruppo in:

1.° *B. dell'edema maligno* - Gram-positivo, acidifica il cervello, fonde la gelatina, coagula lentamente il latte (*coagulo fino a metà tubo*).

2.° *B. dell'edema maligno* - Gram-positivo; acidifica il cervello nella maggior parte, lo annerisce, debolmente in vicinanza della superficie, fonde la gelatina, peptonizza il latte, senza però coagularlo.

3.° *B. dell'edema maligno umano*. — Gram-negativo, acidifica il cervello, fonde la gelatina, coagula lentamente il latte, senza ridiscioglierlo.

Secondo E. FRÄNKEL e ZEISSLER il *B.* del *C. sintomatico* ha molti punti di somiglianza, se pure non gli è identico, col *B. dell'edema maligno* di GHON e SACHS: l'unica differenza consisterebbe nella presenza dei filamenti che quest'ultimo forma alla superficie del fegato degli animali.

La questione del *B. del C. sintomatico* rimane tuttora una delle più dibattute, nei riguardi dei legami di parentela col *B. edema maligno*; e nel comportamento del germe dell'Istituto d'Igiene di Modena, isolato dai muscoli neri di una vacca, abbiamo la conferma di questa nostra considerazione.

Aggiungiamo quì, che la prova delle neutralizzazione col siero *anti-tossico anti-vibrione settico* riuscì positiva, nel senso che gli animali, così trattati, sopravvissero, mentre i controlli morirono in 8-10 ore.

Il germe *C. S. II.* invece rispose alle caratteristiche morfologiche e colturali, ritenute proprie del *B. del C. sintomatico* bovino.

PARTE V.

CAPITOLO I.

Esponente bacterico delle infezioni gassose.

Le infezioni gassose, pur non possedendo una unità clinica, sono indubbiamente legate, ed in modo prevalente, all'azione di determinati germi patogeni, i quali possono, a buon diritto, considerarsi come *l'esponente della flora edemo-gassosa classica*.

Nella parte 2^a già si discusse dell'importanza del germe solo od associato e mettemmo in rilievo come l'opinione di coloro i quali ritengono che gli anerobi delle ferite, sul genere, ad es. del *V. settico* o del *B. perfringens*, debbano considerarsi semplici saprofiti capaci di virulentarsi soltanto in determinate condizioni (associazione cogli aerobi), sia contraddetta dall'esperienza giornaliera, giacchè, se non si può negare che d'una stessa specie è dato rintracciare volta a volta stipiti non virulenti e che uno stesso stipite, per determinate modalità può perdere od attenuare le sue facoltà patologiche, non è men vero, che colle colture pure del germe patogeno e colle emulsioni di corpi bacillari viventi e delle loro spore, è possibile riprodurre costantemente per alcuni tipi, quasi costantemente per altri, il quadro clinico caratteristico. Non solo, ma nell'azione locale e generale dei filtrati bacterici troviamo spesso la conferma dei fatti ottenuti colla inoculazione della coltura *in toto*.

Le infezioni gassose quindi, giova ripetere, sono indubbiamente legate alla presenza di determinati germi, i quali, se pure non riproducono un quadro anatomico-patologico costantemente uniforme, portano, però, a morte l'animale con uno o l'altro degli esponenti anatomici e clinici delle infezioni gassose delle ferite (enfisema, edema, ipotermia, alterazioni del sangue).

I sostenitori della natura costantemente saprofitica dei germi che più di frequente si riscontrano nelle infezioni gassose (*vibrione settico*, *B. perfringens*), attribuiscono, in special guisa, alla interassociazione aero-anaerobica la facoltà di virulentazione dell'aneorobio saprofita e TISSIER, come vedemmo, è lo strenuo sostenitore di questa tesi: uno stipite inoffensivo di *V. settico* diventa altamente patogeno, se associato allo *stafilococco* o a questo + *il mesentericus fuscus*. Tale risultato però non dimostra che un lato della tesi e cioè, la possibilità di conferire virulenza

a germi che ne sono sprovvisti: non infirma l'altro e cioè che *esistano germi per sè stessi patogeni e capaci di riprodurre, da soli, il quadro che uno stipite dello stesso gruppo è atto a provocare, soltanto se associato*. Ora, la lunga esperienza di laboratorio dimostra precisamente, alla piena evidenza, questo secondo lato della tesi e cioè, che nelle infezioni gassose, sia dal materiale di ferita, che dal sangue circolante (casi mortali), è possibile isolare un agente che da solo riproduce la malattia: in tale senso, inoltre, depongono i casi, nei quali il germe anaerobio presentasi isolato nella ferita.

* * *

Noi non insisteremo quì sopra i particolari dei reperti ottenuti colla inoculazione di coltura pura dei germi patogeni delle ferite gassose: riporteremo soltanto qualche dato.

La riproduzione sperimentale mediante inoculazione *sottocutanea* od *iutramuscolare* di coltura totale in brodo di 24 - 36 ore, raramente con colture molto vecchie (180 giorni), praticata 192 volte coi germi isolati dal sangue, sortì esito positivo nel 100 % dei casi, quando trattossi di animale ricettivo, specialmente *cavia* e *topo di fogna*: l'iniezione endovenosa uccise anche animali che, come il *coniglio*, eransi dimostrati refrattari o poco sensibili al primo modo di propinazione (*perfringens*, gruppo 5°).

Il quadro anatomico provocato fu costante pel 1°, 2°, e 5° gruppo; meno uniforme nel 3° e 4°; specialmente nel 3°, ebbesi ad osservare, a lato di un quadro edemo-enfisematico, anche il solo quadro edemizzante con edema ora pallido, ora emorragico; la stessa cosa si ripeté per un animale del 5° gruppo, inoculato con coltura in latte.

L'emocultura riuscì positiva 113 volte sulle 114 cavie adoperate; una sola volta riuscì negativa (cavia 19 del 3° gruppo). Nel *topo di fogna* riuscì costantemente positiva ed egualmente nel *coniglio*, ricettivo ai germi dei primi 4 gruppi. L'esame del sangue del cuore, ad animale agonizzante o subito dopo la morte, sui preparati a striscio fornì reperti non uniformi. Nelle *cavie* del 2° gruppo la dimostrazione del germe fu quasi sempre molto facile; nelle *cavie* del 4° gruppo, si ottenne nel 40-50 %.

Risultò presso a poco di uguale frequenza (dal 20 a 25 %) negli animali del 1° e 5° gruppo.

Nel *pulcino* l'emocultura fu negativa nel 30 % dei casi e sempre negativo risultò l'esame del sangue su preparati a striscio.

Coi germi patogeni isolati dalle ferite, i risultati furono presso a poco identici; interessante riuscì talvolta lo studio del quadro anatomico, quando si trattò di animali inoculati con materiale *totale* di ferita (associazioni batteriche).

Interassociazione microbica.

L'influenza della associazione fu da noi studiata (iniezione sotto-cutanea di coltura in brodo) sulla *cavia* e sul *coniglio*, colle seguenti combinazioni:

Anaerobi soli:

- I. *Perfringens* 10 + *B.* del II° gruppo (*B*)
- II. *Oedematiens* + *V. settico* (originale - PASTEUR).
- III. *B. putrefacente* del III° gruppo. + *B. del I° gruppo patogeno* (*N*).
- IV. » » » » . + *V. settico* + *perfringens* 10

Aero - anaerobi:

- V. *Stafilococco aureo* + *perfringens* 10. + *B. del gruppo IV°* (*S*).
- IV. *Streptococco* + *B. del II° gruppo patogeno* (*B*).

Ed i risultati furono i seguenti:

a) Interassociazione anaerobica.

I° *Perfringens* 10° + II° gruppo patogeno (*B*). — Ipotermia rapida (da 38° 4 a 35° in 3 ore); morte in 8 ore circa.

Nel quadro anatomico notasi: edema emorragico considerevole (caratteristica del II° gruppo patogeno), miolisi mediocre e limitata al punto di iniezione; nel peritoneo: liquido ematico, limpido, con i due tipi di germi, ma senza i filamenti tanto caratteristici del II° gruppo.

Emocultura. — Prevalente sviluppo del germe del II° gruppo.

II° *Oedematiens* + *V. settico*. — L'animale muore in 12 ore: il controllo, *V. settico*, muore in 8 ore: il quadro anatomico è con tutta evidenza quello del *V. settico* (enfisema sottocutaneo, edema emorragico, muscoli rossi).

Emocultura. — Quasi sempre positiva, per due germi, sempre, per il *vibrione*.

III° *B. putrefacente* del III° gruppo + I° gruppo patogeno (*N*). — Manca quasi costantemente l'ipotermia precoce, la morte avviene in 7 - 12 ore (il controllo del germe patogeno muore in 16 ore).

Il quadro anatomico non è costantemente uniforme; ora, prevale quello del I° gruppo patogeno, con forte edema emorragico nel sotto-cutaneo e liquido sanguinolento nel peritoneo, ora, si hanno anche note putride. In un caso si ebbe: cute livida, edema sotto-cutaneo pallido, muscoli giallo-sporchi, appena tinti in rosa, odore fetido.

Nel cellulare: numerosi germi del tipo putrido, qualche germe a corto filamento del I° gruppo patogeno: nel peritoneo: sono rappresentati i due tipi; mancano i filamenti. In questo caso la morte era avvenuta dopo 12 ore: la dose della coltura patogena era stata molto inferiore a quella usata in precedenza; raddoppiata la dose della coltura putrida.

Emocoltura. — Nel sangue si trova il germe patogeno, rigogliosamente sviluppato.

IV° *B. putrefacens* del III° gruppo + V. *setticus* + *perfringens* 10. — Abbassamento termico di lieve entità nelle prime 3 ore (da 37,5 a 36,8, da 38,6 a 37,9). Ipotermia accentuata verso 10^a ora (33° - 32°: morte in 12 - 16 ore).

All' *autopsia*: odore molto fetido del corpo dell'animale, liquido rossastro nel sotto-cutaneo, muscoli sbiaditi e ramolliti. Nel peritoneo: scarsissimo liquido; fegato e milza scuri.

Bacterioscopia. — Nel cellulare sotto-cutaneo: *perfringens* + germi putridi; qualche germe sporificato a manubrio, con spora rigonfia paraterminale; *vibrione setticus* in articoli isolati, scarso.

Nel peritoneo: assenza di filamenti; germi dei tre tipi.

Emocoltura. — Presenza dei tre germi, con naturale sviluppo del III° gruppo putrefacente.

b) *Interassociazione aero-anaerobica.*

V° *Stafilococco* + *perfringens* 10 + IV° gruppo (S) patogeno. — Dei due animali, uno sopravvisse 50 ore; localmente si verificò una grossa bozza edemo-gassosa: l'altro morì in 14 ore.

All' *autopsia*. — Molto evidente il quadro edemo-emorragico in ambedue gli animali. Nel cellulare sotto-cutaneo, *cocchi*, *perfringens*, e B. del IV° gruppo; nel peritoneo, qualche corto filamento.

Emocoltura. — Presenza dei 3 germi, con sviluppo prevalente del IV° gruppo.

Il secondo animale morì in 14 ore.

Il quadro locale fu quello edemo-gassoso. Nel sangue si rinvennero solo i due anaerobi.

Controlli. — *Perfringens* 10, morte in 16 ore; S. 4°, morte in 11 ore.

VI. *Streptococco* + 2° gruppo (B) patogeno. — Il decorso degli animali così iniettati non è facile ad interpretarsi in modo esatto; delle tre cavie, inoculate colla dose mortale minima del germe gassoso patogeno, una morì in 6 ore; le altre due, sopravvissero 11 e 13 ore; i controlli, iniettati col solo germe patogeno, morirono, uno dopo 11 ore, uno dopo 9 ore; il terzo, dopo 18 ore.

I risultati ottenuti ci portano a concludere che:

1°) L'interassociazione anaerobica sperimentale non precipita costantemente e sensibilmente il decorso; l'effetto più sensibile è forse l'ipotermizzante. Il quadro dei primi 4 gruppi è sempre notevolmente rappresentato e può dirsi prevalente. Notevole però la estrema scarsità dei filamenti nel peritoneo, anche nei casi, nei quali il quadro del germe corrispondente (2° gruppo: spiccata tendenza di filamento nei tessuti) è bene delineato.

2°) L'associazione *putrida* sembra spiegare una certa influenza nel senso, che meno frequente è l'ipotermia iniziale e si ha invece *ipertermia* quasi costante, seguita da *ipotermia*.

Sul quadro anatomico ha costante prevalenza il germe patogeno, a meno che il dosaggio del materiale non sia tale da permettere l'estrinsecarsi del quadro putrefacente; in tal caso si può assistere al quadro *misto* della infezione gassosa, nel quale il carattere putrefacente è ben delineato.

3°) L'associazione dello *stafilococco* pare non abbia dato risultati conclusivi nei nostri due esperimenti. La insolita lunga sopravvivenza di uno degli animali è forse da ascriversi alla loro robustezza (cavia maschio di 750 gr.), quantunque la dose del materiale fosse stata commisurata al peso.

4°) L'associazione dello *streptococco* pare aggravare il decorso dell'infezione gassosa.

CAPITOLO II.

Significato dei germi non decisamente patogeni.

Virulentazione.

Nei capitoli precedenti fu accennata la possibilità che germi non patogeni, o molto scarsamente virulenti, possano diventare nocivi all'organismo ospite, e citammo le esperienze di ROGER, MONTI, GAMALEYA fino a quelle di ZIRONI e CAPONE; in ultimo riportammo anche la concezione di TISSIER, nei riguardi degli anaerobi delle ferite.

Nel corso di questo nostro studio il problema ci si presentò ripetutamente alla mente, sia per le idee già da altri espresse, come per alcune nostre osservazioni casuali. Una del genere, fu la seguente:

Il giorno 12 ottobre 1918 una cavia di 260 gr. riceve sotto cute una coltura in brodo fatta colla colonia del tipo 4° della pagina 579. Ventiquattro ore dopo (13 ottobre), nel sito dell'iniezione si osserva una vescicola nerastra, contenente liquido ematico. Il liquido viene aspirato con una siringa sterilizzata ed insemato in brodo TAROZZI non glucosato. Si ottiene sviluppo di gas, lieve annerimento del frammento, colorito verdognolo del liquido, odore fortemente putrido. Nel liquido di vescicola si nota la presenza di bastoncini, col tipo già stu-

diati (v. la descrizione del germe, prevalentemente anaerobio, nel capitolo dei reperti di ferita, pag. 579 e segg.) e di cocci.

Il 14 ottobre colla brodo-coltura di 24 ore si inietta una 2^a cavia di 300 gr. Alle ore 8 del 15 l'animale dà segni di malessere, sta raggomitolato, ha dispnea.

Localmente: nessun sintomo. Ad ore 18, muore (dopo 34 ore).

L'*autopsia* viene eseguita negli ultimi istanti di vita, coi seguenti risultati:

Nel punto d'inoculazione: cute gangrenata; nel cellulare sottocutaneo, edema gelatinoso, con liquido filante; sotto l'aponevrosi, qualche bolla di gas e muscoli sbiaditi.

A distanza, solo qualche bollicina di gas.

Nel peritoneo: liquido filante, roseo, torbido.

Fegato con chiazze necrotiche; rene molto slavato; milza rosea, leggermente succulenta.

<i>Coltura anaerobica</i>	dal sangue	} dopo 12 ore: gas, odore fetido, aereazione del frammento.
»	» liq. peritoneale	
»	» liq. sottocutaneo	

Bacterioscopia dei tessuti. — Nel liq. sottocutaneo: rari bastoncini, mobili.

»	»	Nel liq. peritoneale: bastoncini ricurvi a semicerchio, taluni sporificati a tipo paraterminale.
»	»	<i>liquidi colturali.</i> — Un unico tipo di bastoncino molto scarsamente mobile, GRAM resistente.

Piastre in agar anaerobico. — Dal brodo del sangue, sviluppo di colonie del tipo già descritto; dal brodo del peritoneo, idem; dal brodo del cellulare sottocutaneo, colonie di cocci e del germe iniettato.

Il giorno 16 ottobre, ad ore 19, la 1^a cavia, sopravvissuta alla inoculazione della brodo-coltura, viene nuovamente iniettata sotto cute con 3 cc. di brodo-coltura di 24 ore, fatta col sangue della 2^a cavia.

Alle ore 8 del 17, e cioè 13 ore dopo, l'animale appare quasi morente. Nella giornata però va rimettendosi; il miglioramento continua nei giorni successivi.

Il 2 novembre, alle ore 8, l'animale si trova morto.

Nell'intervallo di tempo erasi verificata una perdita di 80 gr. di peso.

L'*autopsia* non riesce a mettere in evidenza la causa della morte.

Tale l'osservazione. L'interpretazione non ne è certamente agevole, se si riflette che il germe, inoculato nelle stesse condizioni di veicolo e di terreno si era dimostrato per lo innanzi costantemente sprovvisto di azione patogena rilevante, limitando la sua azione alla provocazione di fittene cutanee. L'in-

dagine bacteriologica dei tessuti e delle colture della 2^a cavia non mise in evidenza che la associazione di un cocco nel cellulare sottocutaneo, mentre, le colture del peritoneo e del sangue, dimostrarono la presenza del solo germe iniettato; fatto confermato dalle colture in agar.

Allo scopo di studiare l'eventuale possibilità di virulentazione artificiale dei germi non patogeni studiati, io condussi qualche ricerca, operando nella guisa seguente:

Inoculazione sotto-cutanea di:

- 1.º) Cultura in brodo + aggressive batteriche
- 2.º) » » + filtrati di liquidi patologici
- 3.º) » » + filtrati di colture in brodo di
anaerobi gassosi patogeni.
- 4.º) Inter-associazione microbica.
- 5.º) Coltivazione in terreni speciali (liquido ascitico
tubercolare, bile).

1.º *Cultura in brodo + aggressive batteriche.* — La preparazione dell'aggressina fu eseguita col metodo WASSERMAN-CITRON. I germi adoperati furono: un *proteo*, il *piocianico* e lo *stafilococco aureo*.

L'esperienza venne così disposta:

Iniezione sotto-cutanea.

N.º 1. Cavia	gr. 560	10-1-18	2 cc. brodo-cultura R. ^b + 2 cc. aggressina acquosa proteo.	Turgore locale sopravvive.
N.º 2. idem	gr. 495	10-1-18	2 cc. brodo-cultura R. ^b + 3 cc. aggressina acquosa b. piocianico.	Muore in caches- sia il 21-1-18.
N.º 3. idem	gr. 480	18-1-18	2 cc. brodo-cultura G. V. + 2 cc. aggressina acquosa stafilococco.	Muore il 22-1-18.

Delle cavia controllo nessuna venne a morte.

Nei primi due casi il germe sottoposto all'esperimento di virulentazione fu il bacillo, di cui fu fatta parola precedentemente: questo germe, iniettato in dosi alte, sia sotto cute, che nel peritoneo, non aveva mai provocato la morte degli animali. L'inoculazione della brodo-cultura + aggressina del piocianico, fu seguita dalla morte della cavia in 11^a giornata, con perdita di peso dell'animale = a 130 grammi: localmente erasi verificata una flittena, poi guarita.

All' *autopsia* dell'animale, si trovarono fatti iperemici al fegato ed ai polmoni; nel cavo addominale, poche gocce di liquido limpido, batterioscopicamente negativo.

L' *emocoltura* risultò negativa: la coltura dal fegato diede sviluppo di germi non identificati.

Il 3.° esperimento fu alquanto più conclusivo: la morte della cavia avvenne attraverso l' *estrinsecazione* di fatti locali rilevanti (edema gelatinoso roseo, rammollimento dei muscoli); nel peritoneo, liquido rosso-scuro, contenente germi che morfologicamente somigliavano al germe inoculato.

I risultati ottenuti, quantunque dei non meglio probativi, dimostrano tuttavia che l' *associazione* dell' *aggressina* del *piocianico* e dello *stafilococco* non era rimasta senza influenza sopra le *inoculazioni* della coltura del germe: l' *associazione* dell' *aggressina* del *proteo* invece parve passare inosservata.

2.° *Coltura in brodo + filtrati di liquidi patologici.* — I germi studiati furono quelli del 1.° e 3.° gruppo, putrefacenti; il liquido patologico usato fu il liquido peritoneale di un coniglio inoculato sotto cute, con 10 cc. di brodo-coltura filtrata di *perfringens* 10. L'animale dopo parecchi giorni di malessere e di diarrea, era venuto a morte (3-13 febbraio 1919). All' *autopsia* si rinvennero nel cavo peritoneale circa 30 cc. di liquido color mattone, difficilmente coagulabile. La prova colturale, eseguita in brodo glucosato, riuscì negativa pel *perfringens*: risultò invece la presenza di cocchi e di bacilli mobilissimi, esili.

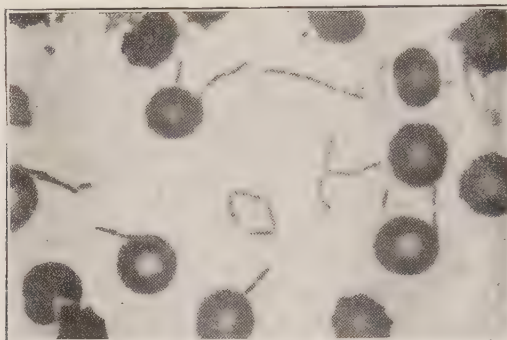
Questo liquido venne centrifugato e poi filtrato alla Berkefeld: l' *insemenzamento* del filtrato riuscì ripetutamente sterile.

ESPERIENZE COL I. GRUPPO PUTREFACTENTE.

Iniezione sottocutanea

1. ^a Cavia	g. 510	3-6-19	4 cc. brodo coltura + 1 cc. filtrato.	Diarrea, edema, flittene; vasta necrosi dei tessuti; dimagrimento; guarigione.
2. ^a Cavia	g. 490	3-6-19	3. cc. brodo coltura + 1,5 cc. filtrato.	Vasta escara umida - guarigione.
3. ^a Cavia	g. 640	3-6-19	3 cc. brodo coltura + 2 cc. filtrato.	Tumefazione, necrosi locali, infezione secondaria: morte (5° giorno).
Controllo	g. 430	3-6-19	2 cc. brodo coltura.	Flittene, piaga, guarigione.

Dai risultati ottenuti, sembra logico indurre che l'associazione del filtrato non sia rimasta senza influenza. Nel caso 3° la morte, sopravvenuta in 5ª giornata, fu ritenuta imputabile per buona parte ad una grave infezione secondaria: l'emocoltura infatti mise in evidenza la presenza di cocchi-



ESPERIENZE COL III GRUPPO PUTREFACENTE

Queste rivestono una speciale importanza e l'interpretazione di un gruppo di fatti è non del tutto agevole.

Riporto il protocollo delle esperienze, premettendo che l'inoculazione sotto cute ed endo-peritoneale della coltura pura in brodo glucosato del solo germe putrefacente del 3° gruppo si dimostrò ripetutamente incapace di uccidere la cavia ed incostantemente fu seguita da fatti locali di importanza.

Esperienza 1.^a - (2-6-19, ore 19). — Cavia di gr. 580 - T. 38°.8 - Iniezione sottocutanea di 2 cc. di brodo-coltura + 1 cc. di filtrato peritoneale di coniglio.

3-6-19, ore 8, T. 34. - La cavia è gravissima: diarrea; tremori; edema locale, non crepitante.

Ore 17 ÷ *Autopsia* - Cute livido-verdognola in disfacimento putrido, odore fetido; muscoli rammolliti, di colore verdastro, assenza di gas.

Nel peritoneo: 12 cc. di liquido torbido, color mattone: fegato con placche necrotiche, giallo-sporche.

Fra le pagine mesenteriche numerose emorragie puntiformi.

Bacterioscopia. — Cellulare sottocutaneo: germi mobili, non sporulati.

Liquido peritoneale. — Bastoncini mobili, esili, non sporulati, costantemente isolati, mai in filamento.

L'emocoltura mise in evidenza la presenza del tipico bastoncino già descritto: nella piastra agar anaerobica ebbero sviluppo, in coltura pura, delle caratteristiche colonie a nucleo spesso, opaco, con filamenti.

Nei preparati di sangue a striscio fu dimostrabile la presenza di numerosi bastoncini (fig. qui sopra).

L'esperimento eseguito poteva quindi dirsi ottimamente conclusivo, nel senso che un germe non patogeno aveva provocato, in associazione con un liquido patologico, amicrobico, tossico, un quadro di gravità impressionante a tipo altamente putrido. Aggiungiamo un'esperienza non priva di interesse.

Esperienza 2.^a — Il sangue del cuore della cavia, aspirato nel periodo agnico, fu iniettato, in quantità di 2 cc., nel peritoneo di una cavia (3 giugno 1919, ore 16,30).

L'animale ebbe un abbassamento termico di circa un grado, malessere; indi rientrò nella norma.

Questa esperienza dimostra che il sangue della 1.^a cavia, quantunque contenente numerosi germi, non aveva acquistato proprietà patogene elevate: la virulentazione del germe nel corpo, dell'animale, per conseguenza, deve ritenersi esclusa.

La cavia controllo, iniettata sotto cute con 1 cc. del filtrato del liquido peritoneale del coniglio, ebbe diarrea, formazione di escara umida; nel sito di iniezione alla rimozione dell'escara tenne dietro una piaga sporca e l'animale morì in 9^a giornata; all'*autopsia* si riscontrarono forme nodulari, dure, alla base del polmone destro. Nell'emocultura: streptococchi.

Fin qui i risultati ottenuti apparivano sufficientemente chiari: il germe non patogeno, in unione ad un liquido tossico amicrobico, aveva determinato un quadro anatomico a tipo squisitamente putrido e la morte dell'animale in *bacteriemia*.

Gli esperimenti seguenti invece complicarono notevolmente l'interpretazione dei fatti messi ulteriormente in rilievo; li riassumo nel modo seguente:

Esperienza 3.^a — (5 giugno 1919, ore 12). — Cavia 3.^a di gr. 600 — T. 37°,7 — Iniezione endo-peritoneale di 1 cc. di liquido peritoneale della cavia 1.^a

ore 19, T. 36°,7

6 giugno, ore 7 — T. 37°,8 » 19, T. 39°,3

7 » » 8 — L'animale è grave; » 11, agonizzante. Viene sacrificato.

Autopsia-Cellulare sottocutaneo. — Liq. emorragico; qualche bolla di gas. Peritoneo. — Liquido ematico.

Fegato. — slavato. — Milza. — Scura.

Intestino tenue e grosso — fortemente disteso da gas, iperemico.

Bacterioscopia. — Cellulare sotto-cutaneo e peritoneo. — Pochi bastoncini, isolati, in catenelle; assenza di filamenti.

Mantenendo l'animale in termostato per 24 ore, si ha: forte sviluppo di gas dal fegato; inoltre, putrefazione rapida nelle 48 ore, odore fetidissimo; i visceri diventano picei, diffuenti.

Emocultura. — Gas, intorbidamento, forte odore putrido; bastoncini mobilissimi, isolati o a due.

In 3.^a giornata il brodo è totalmente sporificato.

Il quadro ottenuto in questo animale non poteva fare a meno di impressionare ed il sospetto di trovarci dinanzi a fatti differenti da quelli osservati nella 1.^a cavia si imponeva alla mente: il quadro anatomico infatti ritraeva parecchio di quello dell'infezione gassosa, a tipo misto.

In questo concetto, si proseguì, da un lato, nell'indagine batteriologica con punto di partenza dal brodo della emocultura, dall'altra si eseguirono ulteriori ricerche negli animali: queste ultime portarono ai risultati seguenti:

Esperienza 4.^a — (13 giugno) — Cavia 4.^a di gr. 360. — Inoculazione sotto cute di 2 cc. di coltura in brodo glucosato, allestita col sangue del cuore della cavia 2.^a

Morte dopo 22 ore col quadro gassoso prevalente (edema emorragico, mu-

scoli rossi) e col reperto bacterioscopico della infezione gassosa da *V. settico* (filamenti nel peritoneo ed alla superficie del fegato).

Esperienza 5.^a - (14 giugno) - Coniglio 1.^o di gr. 480. Inoculazione sotto cute di 2 cc. di coltura del brodo, adoperata per la cavia precedente.

Morte dopo 3 ore con quadro locale scarso e reperto classico dei filamenti nel sangue, (fig 3, pag. 601).

Esperienza 5.^a - (14 giugno 1919, ore 19). - Coniglio 2.^o di gr. 780. Inoculazione sotto cute di brodo-coltura di 44 ore, allestita dal sangue del cuore del coniglio 1.^o

Morte dopo 3 ore; lieve quantità di gas e di liquido emorragico nel cellulare sotto-cutaneo; bastoncini di varia lunghezza, mobilissimi, nel cellulare sotto-cutaneo e nel peritoneo: assenza di veri filamenti nel liquido peritoneale ed alla superficie del fegato.

Esperienza 6.^a - (16 giugno 1919 ore 19). - Cavia 5.^a di gr. 130. - Inoculazione sotto cute di $\frac{1}{2}$ cc. della brodo-coltura adoperata pel coniglio precedente: morte dopo due ore e 30'.

Autopsia. - Edema emorragico e muscoli rossi nelle vicinanze dell'iniezione: muscoli lividi a distanza.

Fegato, milza e reni. - Rosso-scuri.

Bacterioscopia. - Cellulare sottocutaneo. - Bastoncini mobilissimi, non sporificati.

Peritoneo. - Bastoncini in catenelle di 3-4 individui, mobili, assenza di veri filamenti.

Superficie del fegato. - Qualche corto filamento.

Nello schema seguente sono sintetizzati i fatti osservati:

Cavia I^a

Iniezione 3^o germe putrefacente + filtrato peritoneale.

Muore dopo 22 ore: quadro putrido classico.

Cavia III^a

Iniez. sotto-cute liq. peritoneale cavia I^a

Morte in 44 ore. - Quadro edemo-gassoso, prevalente su quello putrido. -

Putrefazione post-mortale rapidissima.

Cavia II^a

Iniez. endo-peritoneale di sangue di cavia I^a; sopravvive.

Cavia IV^a

Iniez. sotto-cutanea di emocultura cavia III^a. - Morte in 22 ore. - Quadro gassoso prevalente.

Bacterioscopia - Filamenti nel peritoneo ed alla superficie del fegato.

Putrefazione rapida dei visceri addominali.

Coniglio I^o

Iniez. sotto-cute dell'emocultura cavia III^a. - Morte dopo 3 ore. - Filamenti nel sangue.

Cavia V^a

Iniez. sotto-cute di emocultura coniglio I^o.

Morte dopo 2 ore e 30'.

Filamenti di 102 μ . sulla superficie del fegato. Aereazione e putrefazione post-mortale.

Coniglio II^o

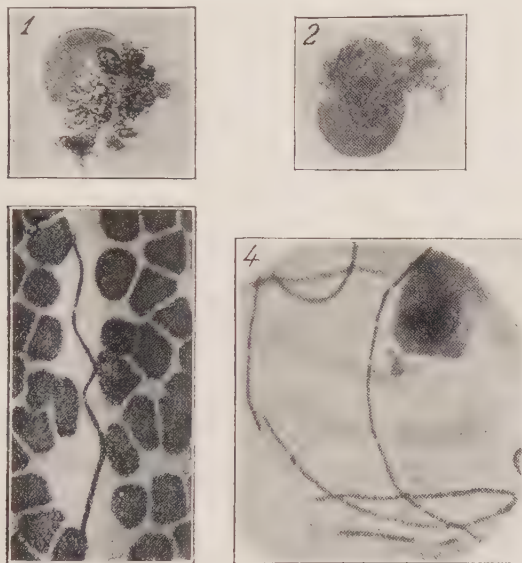
Iniez. sotto-cute di emocultura coniglio I^o.

Morte dopo 3 ore. - Filamenti nel sangue.

Questa seconda serie di risultati avvalorava il sospetto che qualche fatto nuovo fosse intervenuto; spettava quindi alle ricerche batteriologiche tentare di delucidare il problema.

Le indagini sul brodo di emocultura della cavia I^a avevano rivelato la presenza del solo germe inoculato, presenza appieno confermata dallo sviluppo, in agar, delle colonie corrispondenti.

Il germe quindi era passato nel sangue, pur non avendo acquistato proprietà decisamente patogene, come fa fede il risul-



tato dell'iniezione endo-peritoneale, nella cavia II^a, del sangue del cuore della cavia I^a tanto ricco di germi, da potere questi venire agevolmente rilevati sui preparati a striscio (v. fig. a pag. 598).

L'inoculazione del liquido di emocultura veniva, ulteriormente, a conferma della scarsa virulenza del germe.

Le ricerche furono allora rivolte al liquido peritoneale della cavia I^a e successivamente alle emocolture degli animali inoculati col liquido stesso o colle brodo-culture in serie degli animali, deceduti in seguito al trattamento.

L'esame del liquido peritoneale della cavia I^a, per condizioni impreviste, non potè venire condotto con quella tecnica che avrebbe permesso conclusioni attendibili: è quindi necessità tenere un conto molto approssimativo dei risultati da esso forniti.

Probativi invece riuscirono gli esami specialmente sulle colture del sangue e del liquido peritoneale della cavia 3^a, 4^a, 5^a e del coniglio 1°. Nelle piatte in agar anaerobico, allestite colla emocultura della cavia 3^a, furono isolate:

1°) *La colonia del germe putrefacente*, inoculato alla cavia 1^a.

2°) *Una colonia ad anelli*, con ciuffetto di ramificazioni, dipartentisi ora dal centro, ora da uno dei poli (fig. 1, pag. 601).

Dal sangue e dal liquido peritoneale della cavia 4^a, colonie dei due tipi precedenti e colonie chiuse che, trapiantate in brodo e di qui nuovamente in agar, riprodussero colonie aperte a batuffolo o semi-aperte ad anello.

Dalla emocultura del coniglio 1°, colonia del *germe putrefacente* e colonia pressochè identica alla colonia ad anelli della cavia 3^a, (fig. 2, pag. 601).

Colle colonie isolate, furono allestite volta per volta, brodoculture, che, inoculate nella cavia, condussero ai risultati seguenti:

1°) *Le colonie del tipo putrido* non provocarono la morte dell'animale, ma solo fatti locali transitori.

2°) *Le colonie ad anello* provocarono costantemente la morte della cavia col quadro anatomico classico delle infezioni gassose da *vibrione settico* (muscoli rossi, per lo più asciutti, bolle di gas, edema emorragico, filamenti a catena nel peritoneo (fig. 4^a, pag. 601).

Il germe isolato fu omologato al germe del 2° gruppo patogeno, per i caratteri seguenti: colonia ad anelli, forme atipiche dei bastoncini, facilità di dimostrazione del germe nei preparati di sangue a striscio (cavia e coniglio), tendenza al filamento alla superficie del fegato e nel liquido peritoneale della cavia. Tale tendenza era però meno spiccata e, più che lunghi tipici filamenti, risultarono lunghe catene, composte di articoli molto sviluppati (fig. 4, pag. 601).

La prova della neutralizzazione col siero *antitossico antivibrione settico* confermò la stretta relazione di gruppo fra quest'ultimo ed il germe isolato.

Quale la spiegazione del quadro della cavia 3^a?

Due sono le possibilità, e cioè:

1°) che il liquido peritoneale della cavia 1^a, morta col quadro putrido classico, *contenesse i germi del gruppo vibrione*.

2°) che all'atto della inoculazione del liquido peritoneale

della cavia 1^a nella cavia 3^a fossesi verificato un *inquinamento*, imputabile alla tecnica.

Esaminiamo le due eventualità.

a) Circa la prima eventualità. — Le indagini portate sul liquido peritoneale della cavia 1^a purtroppo, come si disse, furono incomplete: bacterioscopicamente si potè assodare che il liquido conteneva germi, morfologicamente molto simili al germe putrido iniettato (bastoncini ben mobili, isolati, mai in filamenti): dalle piatte in agar, allestite direttamente dal liquido, non si ebbe alcun sviluppo, mentre le brodo-colture andarono distrutte, senza poterne eseguire il trapianto in agar. Fu assodata invece la presenza del solo germe putrido nelle colture del sangue del cuore: dovrebbero dedurne per conseguenza:

1°) che nel liquido peritoneale della cavia 1^a non esistesse il germe patogeno gassoso.

2°) o che esso fosse talmente raro, da sfuggire alle nostre indagini bacterioscopiche.

b) Eventualità d'inquinamento all'atto della inoculazione. — Tale evenienza non esce dal campo delle possibilità, e, pur non essendo probabile, non può tuttavia venire esclusa. Facciamo però osservare che il decorso clinico lento (44 ore), non è il più adatto a suffragare una ipotesi di tal genere, (le brodo-colture della colonia isolata dal sangue del cuore della cavia 3^a uccisero sistematicamente la cavia, per iniezione sottocutanea, alla dose di 0,2 cc. per 100 gr. di peso, in 8 - 11 ore).

Resta a considerare la possibilità:

1°) che nel liquido peritoneale della cavia 1^a esistesse il germe gassoso patogeno, ma in quantità talmente scarsa da non essere stato possibile metterlo in rilievo col semplice esame bacterioscopico.

2°) che il germe gassoso patogeno non fosse iniettato col liquido della cavia 1^a, ma esistesse soltanto nella cavia 3^a.

In ambedue i casi dovrebbero ammettere, che, esclusa l'ipotesi dell'inquinamento, il germe fosse di provenienza endogena e più propriamente di provenienza intestinale; in altre parole, che il materiale inoculato, tanto nel caso della cavia 1^a, che della 3^a, avesse creato condizioni favorevoli (paresi, congestione, distensione delle anse) al passaggio del germe dall'intestino al peritoneo; donde, nel caso della cavia 3^a, la diffusione al circolo sanguigno ed ai tessuti.

La presenza del *V. settico* o *B. dell' edema maligno* nell'intestino, specialmente degli erbivori, è un fatto notoriamente riconosciuto: e qualche caso della letteratura antica e recente (passaggio in circolo del *V. settico* attraverso ulcere intestinali, infezione gassosa della parete addominale nel caso di fistole stercoracee da ferite) viene a confermare l'importanza dell'intestino nella genesi delle infezioni gassose.

L'integrità o meno della parete intestinale è certamente uno dei fattori da prendersi in considerazione, nei casi di infezioni gassose nell'uomo e nell'animale, nei quali l'esistenza di una ferita, di una porta di entrata attraverso la superficie del corpo, non è dimostrabile.

Qual si sia l'interpretazione meglio adeguata, io ho stimato utile esporre i fatti quali si svolsero; essi richiesero indagini laboriose e ripetute, prima di condurre ai risultati dei quali abbiamo fatto parola.

Il germe putrido fu ripetutamente isolato dal sangue degli animali esaminati (cavia 2^a, 3^a, 4^a, 5^a e coniglio 1° e 2°). La brodo-coltura, allestita colla colonia in agar, si dimostrò provvista dei caratteri propri del germe; l'inoculazione della brodo-coltura + il filtrato peritoneale, già usato nella cavia 1^a, praticata il 19 giugno in una cavia di 480 grammi, fu seguita da questi fenomeni: rialzo termico di 1° e $\frac{1}{2}$; forte tumefazione locale, arrossamento modico, macerazione della cute, formazione di un'escara umida, estesa a circa una metà della parete dell'addome. Alla rimozione dell'escara non seguì che incompleta riparazione della vasta perdita di sostanza.

L'animale morì in cachessia il 12 luglio.

All'*autopsia* non si rinvennero fatti degni di menzione.

Nella cavia-controllo (iniezione sotto-cute di 1 cc. di filtrato-liquido peritoneale) si osservò: rialzo termico, edema locale superficiale; questi fatti durarono alcuni giorni e poi si dileguarono, senza lasciare traccia.

Riassumendo. — Un germe, molto scarsamente patogeno, come quello del 3° gruppo putrefacente, associato ad un liquido patologico *amicrobico*, *tossico*, è stato capace di provocare nella cavia un vero processo *putrido* e la morte dell'animale (cavia 1^a). Nei casi, nei quali si trovò associato ad un germe patogeno gassoso del gruppo del *vibrione settico*, il germe putrido non rimase passivo, ma contribuì ad aggravare il quadro, col provocare

fatti putridi, associati ai gassosi classici: esso fu isolato costantemente dal sangue, in unione al germe patogeno, in tutti gli animali deceduti.

3°) *Filtrati colturali di germi patogeni.* — Fu sperimentato col germe putrido del 3° gruppo in unione a brodo-coltura di 48-72 ore del germe del 2° gruppo e del *perfringens* 10.

Dai risultati ottenuti, data anche la scarsità delle esperienze eseguite (N. 4°) non ci sentiamo autorizzati a conclusioni decisive; tanto negli animali inoculati, sotto cute, colla miscela *coltura putrida totale* -|- *coltura patogena filtrata*, come negli animali controllo, si verificarono fatti distruttivi con escara umida, cui seguì riparazione abbastanza rapida.

Uno degli animali morì a distanza di tempo (21 giorni) in profondo dimagrimento: esso era stato iniettato con miscela *coltura totale del 3° gruppo putrefacente* + 2 cc. *filtrato dal germe del 2° gruppo patogeno* (B): in questo animale la piaga, residua alla caduta dell'escara, erasi mantenuta infetta e senza tendenza alla riparazione per tutta la durata della sopravvivenza dell'animale. All'autopsia risultarono fatti essudativi cotennosi sul fegato, sulla milza e sull'intestino: nell'*emocoltura* risultò la presenza di cocchi.

4° *Interassociazione microbica.* — L'interassociazione fu studiata associando:

1°) *Due o più germi non patogeni.*

2°) *Germi non patogeni ed anaerobi patogeni.*

3°) *Germi non patogeni e cocchi patogeni.*

I° *Interassociazione di germi non patogeni.*

a) *Germi del 1° gruppo + germi del 3° gruppo.* — I risultati delle inoculazioni sotto-cute furono presso a poco eguali a quelli delle colture isolate. L'inoculazione endo-peritoneale fu seguita da malessere, ipertermia; l'animale però sopravvisse.

b) *Germi dei tre gruppi putrefacenti.* — I fatti locali furono in due animali molto pronunziati, sotto forma di voluminosa tumefazione, con sfacelo della cute, dell'aponevrosi e denudamento dello strato muscolare; uno degli animali morì in 6ª giornata, con emocoltura positiva per il germe del 3° gruppo e di cocchi.

c) 3° gruppo putrefacente + germe putrido R^b — Degli animali uno solo venne a morte: tutti però presentarono rialzo termico notevolmente superiore a quello degli animali-controllo, iniettati con una sola specie di germe. Inoltre, con frequenza si osservò produzione di un edema della cute, che dalla regione iniettata (radice della coscia sinistra) si estendeva fino all'arco costale dello stesso lato.

Nell'animale deceduto (già pochi giorni avanti iniettato col solo 3° gruppo) si rinvennero essudati non recenti nel cellulare sottocutaneo, fatti emorragici e lieve edema. Nel sangue si rinvenne soltanto il putrido R^b .

II° Associazione di più germi putridi ai gassosi patogeni.

2° e 3° gruppo putrefacente + putrido R^b + *V. settico*. — Gli esperimenti furono condotti iniettando media quantità di coltura patogena ($1\frac{1}{2}$ cc. per cavia di gr. 450-520). L'esito letale non fu rapido: in un solo caso si ottenne con evidenza un quadro misto, *gassoso-putrido*; in tutti i casi si verificò il passaggio nel sangue, oltre che del germe patogeno, anche di uno o più germi putrefacenti.

III° Germi non patogeni + cocchi.

a) 3° Gruppo putrefacente + *streptococco*. — Il decorso parve decisamente aggravato: tutti gli animali morirono nello spazio di 14-16 ore: dei controlli, iniettati con sola coltura di *streptococco*, nessuno morì prima della 30ª ora.

Il quadro prevalente fu quello dello *streptococco*: nel sangue però si trovò anche il germe putrido.

b) 3° Gruppo anaerobio putrefacente + putrido R^b + *streptococco*. — Nell'unico esperimento risultò quanto segue:

La cavia, iniettata ad ore 18 del 15-9-19, alle ore 7 del mattino successivamente presentasi ipotermica ($35^{\circ},8$): localmente, una grossa bozza, con pelle livida, pelo facilmente distaccabile; non si avverte crepitio. Alle ore 9 (15 ore dopo l'iniezione) l'animale muore.

All'autopsia: cute rammollita, edematosa, giallastra: nel cellulare sottocutaneo, liquido lievemente rosso: una voluminosa tasca di gas sotto l'aponevrosi superficiale del quadrante inferiore sinistro (lato iniettato) dell'addome. I muscoli, denudati, succulenti, non presentano tracce di disfacimento. A distanza dal punto iniettato, qualche bollicina di gas sotto l'aponevrosi e poco liquido roseo.

Peritoneo, lucente, lievemente iperemico, senza liquido; fegato, reni e milza notevolmente congesti.

Emocoltura. (prelevamento del sangue ad animale agonizzante) - Nel brodo TAROZZI sviluppo di bastoncini coi caratteri del *putrido R.^b*: la piastra in agar dà sviluppo di colonie col tipo di quest'ultimo soltanto.

5°) *Coltivazione in terreni speciali.*

I primi tentativi furono da me fatti coltivando il germe *putrido R.^b* in liquido ascitico di peritonite tubercolare. Il liquido venne filtrato alla candela Berkefeld e poi iniettato nel sottocutaneo dell'inguine della cavia. L'animale non presentò alcun fenomeno.

Nel liquido così filtrato, al quale venne aggiunto un frammento di fegato sterile, fu coltivato il germe, il quale vi assunse uno sviluppo rigoglioso, sporificando nel modo caratteristico indicato dalla fig. 11 della pag. 579.

Il 5 novembre 1918 ad ore 16 venne iniettata una cavia di 385 grammi nel cellulare dell'inguine sinistro, con 3 cc. di coltura-ascite di 6 giorni.

6 novembre ore 8. L'animale dà segni palesi di malessere, sta raggomitolato, rifiuta il cibo.

Nella giornata le condizioni peggiorano; ipotermia.

7 novembre ore 7. L'animale viene trovato morto.

Autopsia. — Nel focolaio di iniezione, considerevole quantità di essudato gelatinoso; assenza di gas; muscoli pallidi; quà e là qualche piccolo focolaio emorragico.

Nel peritoneo. — Forte quantità di liquido mucillaginoso, incolore, nel quale stanno sospesi fiocchetti bianchi: la sierosa è lucente, pallida.

Fegato. — Rosso-scuro con piccole aree necrotiche.

Milza. — Ingrossata, scura.

Rene. — Congesto.

Polmone. — Di aspetto normale.

Bacterioscopia. — Nel focolaio di iniezione, scarsi bastoncini, isolati, lunghi da 3.5 a 4 μ .

Nel peritoneo rarissimi bastoncini: appena mobili. Nel fegato, qualche bastoncino isolato.

Emocoltura. — (Il sangue fu preso dal cuore quando l'animale era già morto). Gas; intorbidamento, odore leggermente fetido; il frammento di fegato non è annerito.

In goccia pendente: bastoncini discretamente mobili.

Piatta in agar. — Dall'emocoltura, sviluppo di un unico tipo di bellissime colonie, rispondenti alla figura 4 della pag. 579.

Le colonie crescono tutte nello spessore dell'agar, preferibilmente nell'ambito della piastra interna.

Uguali risultati si ottengono dalla cultura del liquido peritoneale.

Colla coltura dal sangue del cuore di questa cavia viene iniettata una cavia di gr. 270.

L'animale presenta rialzo termico ed abbattimento.

Sottoposto ad una nuova iniezione 4 giorni dopo con 3 cc. di brodo coltura di 5 giorni, l'animale presenta un rialzo termico ancor più sensibile (da 38°,2 a 39°,7): localmente, una bozza edematosa, molle: nei giorni susseguenti, tutto rientra nella norma.

La cavia controllo, iniettata sotto cute colla brodo-coltura madre, sopravvisse, presentando lievi fenomeni locali.

La cavia, iniettata con semplice liquido ascitico filtrato, al termine di 45 giorni non presentava alcun fenomeno locale nè generale. Essa venne sacrificata. *All'autopsia*, nulla risultò di notevole.

Il 7 marzo 1919 l'esperimento venne ripetuto, usando liquido ascitico, lievemente ematico, di una peritonite tubercolare; il liquido invece che filtrato fu solo centrifugato.

Questa volta l'esperienza venne condotta col germe putrefacente del 3° gruppo.

7 marzo 1919, ore 12. Cavia di gr. 510 - T. 36°,7.

Iniez. sottocutanea di 2 cc. di ascite-coltura. Ore 18 T. 38°,9.

8 marzo, ore 8 T. 38°,8. Tumefazione pastosa ed arrossamento della parte.

9 marzo, T. 38°,9. La tumefazione si circoscrive a forma di nodulo nel sotto-cutaneo: l'arrossamento tende a diminuire.

Nei giorni successivi le condizioni generali non appaiono molto cambiate; in corrispondenza del nodulo la cute tende ad assottigliarsi e diventa cianotica.

Il giorno 16 le condizioni peggiorano: il 17, l'animale muore. In questo intervallo di tempo il peso è disceso da 510 a 390 gr.

Autopsia. — Nodulo duro nel sotto-cutaneo, in corrispondenza della parte iniettata; fegato lievemente giallastro, milza, reni e capsule surrenali iperemici.

Il noduletto sottocutaneo venne trasportato in brodo TAROZZI: si ottenne sviluppo di gas, con odore fetido; all'esame bacterioscopico, *cocchi* e *bastoncini sottili*, che non poterono venire identificati con precisione.

La coltura dal sangue del cuore risultò negativa.

La cavia controllo, iniettata sotto cute con 2 cc. del liquido ascitico centrifugato, sopravvisse senza fenomeni apparenti.

Da queste poche esperienze non è certo lecito trarre deduzioni, che potrebbero sembrare azzardate. Espongo le cose senza soverchi commenti, solo richiamando l'attenzione sopra i fatti, quali si sono presentati e svolti.

Lo studio sistematico della virulenza dei vari mezzi nutritivi aveva già attirata la mia attenzione sulla coltura in *bile* di bue nei riguardi dei germi gassosi patogeni.

In questi ultimi tempi estesi le mie ricerche anche ai germi non patogeni, da me isolati nelle ferite, e segnatamente al putrido R^b, ed al 3° gruppo putrefacente.

Nei riguardi del germe R^b, colpì il fatto della rigogliosa sporulazione e dell'acidificazione intensa, talvolta già entro le 24 ore.

Riporto il protocollo delle esperienze.

22 - 9 - 19. Ore 17; *Cavia* A¹ di gr. 280. Iniez. sottocutanea di 1 1/2 cc. bile-cultura di 48 ore.

23 - 9 - 19. Ore 7. Si trova morta.

Autopsia. — Sul focolaio d'iniezione, bollicine di gas nel sottocutaneo; muscoli rossastri, in qualche punto nerastri; a distanza, piccole bollicine di gas.

Nel peritoneo. — Liquido chiaro, scarso.

Bacterioscopia. — Nel cellulare sottocutaneo, bastoncini corti, non sporulati: nel peritoneo non si vedono germi.

Emocultura. — Positiva pel germe iniettato.

26 - 9 - 19. Ore 18; *Cavia* A² gr. 220 T. 36°,8. Iniez. sottocutanea di 2 cc. di bile-cultura di 5 giorni (la stessa già riuscita mortale per la cavia precedente).

26 - 9 - 19. Ore 7. Si trova morta.

Autopsia. — Addome fortemente disteso, cute verdastra. Nel sottocutaneo degli inguini numerose bollicine di gas e liquido gelatinoso - emorragico; muscoli verdastrì.

Nel peritoneo. — 5 cc. di liquido ematico color mattone, filante. Fegato a grosse chiazze nerastre; milza e reni rosei.

Polmoni. — Iperemici.

Bacterioscopia. — Nel cellulare sottocutaneo, qualche germe sporulato; in peritoneo, bastoncini non sporulati, lievemente mobili.

Emocultura. — Lieve gas, intorbidamento, odore fetido, germi sporulati a tipo paraterminale, spore in catena.

Piastra in agar: colonie del germe iniettato.

28 - 9 - 19. Ore 12. *Cavia* A³ di gr. 460; T. 39°,1. Iniezione sottocutanea di 2 cc. di *emocultura* della *Cavia* A².

Ore 18. T. 40°,1. — L'animale sopravvive, senza fenomeni notevoli.

30 - 9 - 19. Ore 19. *Cavia* A⁴ di gr. 520, T. 38°. Iniez. sottocute bile-cultura fatta col sangue del cuore della *Cavia* A².

1 - 10 - 19. Ore 7. Si trova morta.

Autopsia. — Nel cellulare sotto-cutaneo, gas, liquido gelatinoso-emorragico.

Nel peritoneo: liquido ematico molto torbido, incoagulabile.

Fegato scuro: Milza e reni ingrossati.

Bacterioscopia. — Nel cellulare: spore libere, del tipo caratteristico; qualche spora si trova pure nel peritoneo (fig. 1, pag. 611).

Emocultura. — Gas, odore non fetido, bastoncini del solito tipo.

Coltura dal fegato. — Forte gas, odore fortemente putrido, bastoncini numerosi, non sporificati.

Piastra in agar anaerobico dall'emocultura: scarso gas: colonie del

solito tipo. Una colonia, trapiantata in brodo, dà sviluppo a bastoncini sporificati a catena.

3 - 10 - 19. Ore 12.

Cavia A⁵ di gr. 380 T. 37°, 1. Iniezione sotto-cute di 3 cc. di bile-coltura, allestita con una colonia-agar del sangue della cavia A⁴.



Ore 15, T. 32°, 6. — L'animale ha perduto ogni vivacità e sta rannicchiato: non grida, anche se toccato. Ore 18, T. 32°. Diarrea. — Ore 22, condizioni invariate.

La morte si presume avvenuta alle ore 1 o 2 del 4 - 10 - 19: cioè circa 13 - 14 ore dopo l'inoculazione.

Autopsia. — Reperto identico a quello delle cavia decedute in precedenza.

Emocoltura. — Gas, odore putrido, bastoncini del solito tipo.

Piastra in agar anaerobico. — Sviluppo puro delle colonie del tipo ritratto nelle fig. 4^a e 6^a (pag. 579).

Tutte le colonie in anaerobiosi si sono sviluppate nell'ambito della piastra interna.

8 - 10 - 19. — *Cavia* A⁶ di gr. 570, T. 39°, 3.

Iniez. sotto cute inguine sinistro di 2 cc. bile-coltura di giorni 8, già mortale per la cavia precedente.

Ore 23, T. 40°, 3.

Nel giorno seguente l'animale è abbattuto: l'innalzamento termico persiste.

Localmente si va delineando una grossa bozza dura che grado

grado si rammollisce e si ulcera. Ne residua un'ampia escavazione a livello dell'inguine, crateriforme, con margini scollati, nel fondo della quale si scorgono pulsare i vasi femorali.

Il giorno 15 la perdita di sostanza va riparandosi (fotografia del 17 Ottobre 1919. (Fig. qui sopra - A).

12 - 10 - 19, ore 10. — *Cavia* A⁷ di gr. 240, T. 37°, 8.

Iniez. sottocutanea: 2 1/2 cc. di bile - coltura, di 16 giorni, allestita dal sangue della cavia A².

Ore 15, T. 35°. Ore 18, T. 34°, 2.

13 - 10 - 19. Ore 7. Si trova morta.

Autopsia. — Enorme edema gelatinoso emorragico nel sotto-cutaneo, fino allo sterno; i muscoli della radice della coscia sono rammolliti.

Nel peritoneo, poche gocce di liquido color mattone.

Fegato rosso-scuro; capsule surrenali fortemente congeste.

Bacterioscopia. — Nel cellulare e nel peritoneo numerosi bastoncini.

Emocultura. — Dopo 24 ore rigoglioso sviluppo, con spore a catenelle e bastoncini sporificati a tipo paraterminale.

Coltura del fegato. — Bastoncini sporificati a tipo paraterminale: qualche catenella di spore.

12 - 10 - 19, Ore 18. *Cavia* A⁸ di gr. 190. T. 37°5.

Iniezione sottocutanea di coltura in brodo allestita dal sangue della cavia A², di 16 giorni.

L'animale ha un rialzo termico a 39°3 e sopravvive, senza fenomeni di importanza.

12-10-19, ore 18. — *Coniglio* 1° di gr. 500 - Temp. 37°9.

Iniez. sottocutanea di 2 cc. della bile-coltura riuscita mortale per la cavia A⁷.

13-10-19, ore 9. Temp. 36°2; ore 19: agonizzante. Ore 20 †.

Autopsia. — Edema gelatinoso-emorragico all'inguine iniettato; bolle di gas diffuse alla regione ipogastrica ed all'inguine opposto: muscoli della radice della coscia e della parte inferiore dell'addome, rammolliti, lividi: nel peritoneo, assenza di liquido, fegato e milza congesti.



Emocultura. — Negativa.

Coltura del fegato. — Bellissime catenelle di spore oblunghe, del solito tipo e di germi a catena, come da fig. 2, qui sopra.

Coltura in agar dal brodo del fegato. — Sviluppo di coloniette quasi tutte isolate, chiuse, con ciuffetto di peli (fig. 3).

17-10-10, ore 18. — *Coniglio* 2° di gr. 720.

Iniezione sottocute 4 cc. di bile-coltura di 5 giorni ⁽¹⁾, allestita dall'emo-coltura cavia A.²

18-10-19, ore 9 † — **Autopsia.** — Numerose bollicine di gas nel cellulare sottocutaneo, con liquido rosso, limpido: muscoli edematosi, non rammolliti; tra l'osso femorale ed i muscoli della radice della coscia, liquido ematico, torbido.

Nel peritoneo. — Poche gocce di liquido ematico, suffusione emorragica nel connettivo paraperitoneale corrispondente al fianco iniettato, bolle di gas nel cellulare retroperitoneale.

⁽¹⁾ La bile è acidissima: contiene pochi bastoncini e non si vedono spore.

Fegato. — Di colorito normale; rene roseo-vinoso, con sostanza midollare rosso-violacea; milza ingrossata, rosso-scura.

Nel cavo toracico, nulla di speciale a segnalarsi.

Bacterioscopia. — Nel cellulare sotto-cutaneo numerosissimi bastoncini e spore libere del solito tipo (reperto immediato dopo la morte): nel peritoneo bastoncini ben colorati, non sporificati.

Emocultura	}	positiva pel germe inoculato.
Coltura del cellulare		nella coltura dal cellulare, inoltre, presenza di
Coltura del fegato		cocchi.

18-10-19, ore 17; *Cavia A⁹* di gr. 400.

Temp. 37°,8 Iniez. sotto-cutanea di 2 cc. di *brodo-coltura*, allestita col fegato del coniglio 1° (brodo-coltura di 5 giorni).

L'animale non presenta alcun fenomeno, tranne un rialzo termico nelle prime 24 ore.

20-10-19, ore 15. — *Cavia A¹⁰* gr. 190 - Temp. 37°,1.

Iniez. sottocutanea di 1 cc. di *bile-coltura* di 48 ore, allestita colla brodo-coltura del fegato del coniglio 1°; ore 18 Temp. 38°,3.

A tre ore di distanza della iniezione la cute della regione inoculata è giallo-rossastra, umida, flaccida.

21-10-19, ore 8. Temp. 38°,4. — Nella zona iniettata, grossa area cutanea, colore foglia morta, umida, bucherellata: colla pressione si provoca la fuoriuscita di gas; ore 18 - T. 39°,2.

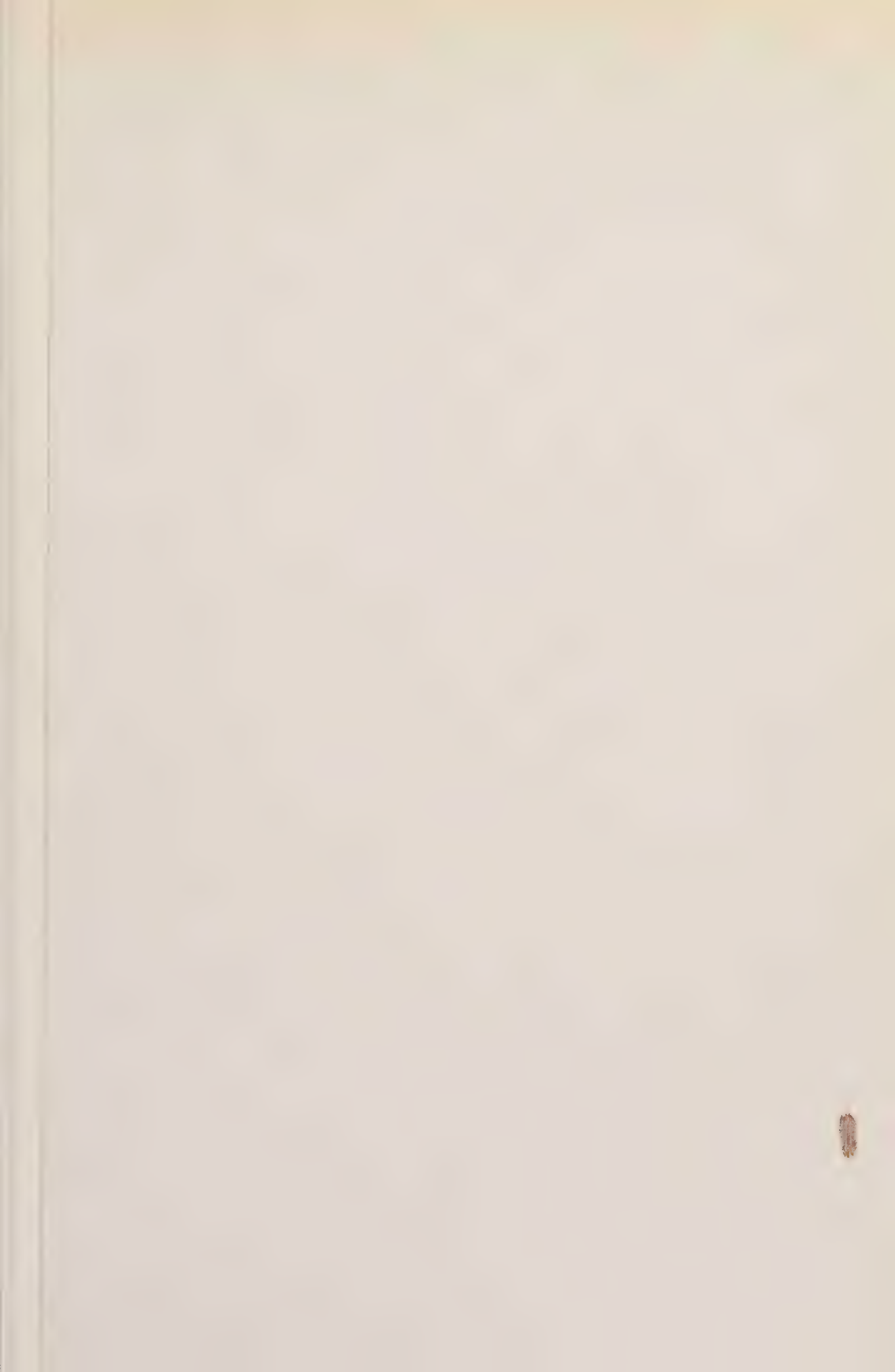
22-10-19, ore 8 — Muore. — *Autopsia.* — Distruzione putrida della cute; scarso liquido torbido nel sotto-cutaneo e nel peritoneo.

Le precedenti esperienze mettono in luce quanto segue, e che riassumo nella tavola annessa:

1°) Un germe, scarsamente patogeno, coltivato nella bile, diventa capace di azione nociva ed uccide quasi sempre l'animale (*cavia* e *coniglio*) in poche ore, con un quadro anatomico, contraddistinto da *edema emorragico*, talvolta *rammollimento dei muscoli*: il germe si ritrova nel peritoneo e nel sangue dell'animale agonizzante o appena morto, come dimostrano gli esami delle colture in brodo e come conferma il trapianto in agar: si sviluppa rigogliosamente nei tessuti viventi e vi sporifica.

2°) Il germe attraverso il corpo dell'animale (*cavia* e *coniglio*) non sembra però acquistare una virulenza intrinseca, inquantochè l'iniezione di coltura in brodo, allestita o col sangue o col fegato dell'animale deceduto, viene tollerata dall'animale senza conseguenze apparenti; mentre la bile-coltura, allestita dai liquidi e dai tessuti, esplica la suddetta capacità nociva.

Ulteriori esperienze vennero eseguite col germe del 1° e 3° gruppo putrefacente e coll'*anaerobio M. F.*, non putrefacente.



VIRULENTAZIONE DEL G

CAVIA A¹

Iniezione sottocutanea

bile-coltura 48 ore.

† Morte dopo 12 ore.

CAVIA A¹ bis

Iniezione sottocutanea

poltiglia di muscoli cavia A¹

Sopravvive senza fenomeni.

CAVIA A⁸

Iniezione sottocutanea

emo-brodocoltura

di 16 giorni A²

Sopravvive senza fenomeni.

CAVIA A³

Iniezione sottocutanea

emo-brodocoltura A² 5 di giorni.

Sopravvive senza fenomeni.

CAVIA A⁴

Iniezione

emo-bile

di 10

Morte dopo

emorragie

gaz, liqu

nel p

Emocoltu

CAVIA A⁵

Iniezione sottocutanea

bile-cultura di 72 ore

di colonia agar da sangue A⁴

Morte dopo 15 ore.

COME R.^b NELLA BILE - CULTURA

CAVIA A²

Iniezione sottocutanea
bile-coltura di 5 giorni.

Morte dopo 12 ore.

Edema gelatinoso-emorragico.
Liquido ematico nel peritoneo.

CA 4

sottocutanea
ora A²
gni.
e con edema
latinoso,
ematico
neo.
positiva.

CAVIA A⁷

Iniezione sottocutanea
emo-bilecoltura A²
di 16 giorni.

Morte dopo 16 ore
fatti più pronunciati
che in Cavia A⁴
Emocoltura positiva.

CONIGLIO 1^o

Iniezione sottocutanea
emo-bilecoltura
A² 16 giorni.

Morte dopo 23 ore

Edema emorragico
Assenza di liquido
nel peritoneo.

CAVIA A⁹

Iniezione sottocutanea
2 cc. coltura dal fegato di 72 ore.
Sopravvive senza alcun
fenomeno.

CAVIA A¹⁰

Iniezione sottocutanea
1 cc. bile-coltura
del fegato, di 39 ore.
Morte dopo 41 ore.
Distruzione putrida delle cute.

CAVIA A⁶

Iniezione bile-coltura
8 giorni da colonia agar
sangue cavia A⁴
Risentimento termico (40.3); malessere.
Formazione di una ampia escavazione
con distruzione della cute,
dell'aponeurosi e denudamento
dello strato muscolare.

Il germe del 1° gruppo in *bile al fegato* ebbe sviluppo molto stentato e l'inoculazione non fu seguita da fenomeni di importanza.

I risultati ottenuti in due animali colla inoculazione sotto-cutanea di coltura in bile del germe del 3° gruppo putrefacente sarebbero stati dei più evidenti, se qualche considerazione non ci consigliasse il riserbo nell'interpretazione dei fenomeni osservati. Dei due esperimenti, uno ne riferiamo, esponendo semplicemente i fatti.

Il 2-11-19 ad ore 10, una *cavia* di 440 gr. (T. 38°,4) riceve sotto la cute del fianco sinistro 2 cc. di *bile-coltura* del 3° gruppo putrefacente; durante l'inoculazione, per un brusco movimento dello animale, si ha l'impressione che la punta dell'ago, ad iniezione quasi ultimata, sia penetrata nel peritoneo.

Ore 12, Temp. 35°,9. Ore 15, Temp. 37°,2 Ore 18, Temp. 33°,4.

3-11 - ore 8 - Temp. 38°,6. — Addome tumido

4-11 - ore 8 - Temp. 39°,1.

5-11 - ore 8 - Temp. 39°.

6-11 - ore 8 - Si trova morta.

Autopsia. — Cute del ventre rosso-vinosa; edema emorragico accentuatissimo, dai due inguini alle ascelle: muscoli rossi, asciutti, crepitanti per finissime bollicine di gas: vene di piccolo e medio calibro trombosate, voluminosa tasca di gas sotto l'aponevrosi.

Il quadro anatomico della parete addominale somiglia singolarmente a quello degli animali morti per inoculazione di *V. settico*.

Addome. — Forte quantità di liquido rossiccio, torbido, di odore sgradevole nel peritoneo; intestino tenue, specialmente l'ileo ed il crasso, nella sua totalità, enormemente disteso da gas: sul crasso, qualche placca di essudato cotennoso. Fegato e milza rosso-scuri, senza placche di essudato.

Torace. — Forte quantità di liquido rosso-mattone, inodoro, poco torbido nelle pleure; polmoni con aree di congestione.

Bacterioscopia. — Cellulare sotto-cutaneo — Numerosissimi bastoncini, di varie dimensioni, mobili ed immobili, non sporificati.

Peritoneo. — Bastoncini mobili, di dimensioni non uniformi; bastoncini immobili, tozzi, cocchi.

Pleura. — Scarsissimi germi.

Col liquido pleurico vengono direttamente allestite piastre di agar anaerobico, che rimangono sterili.

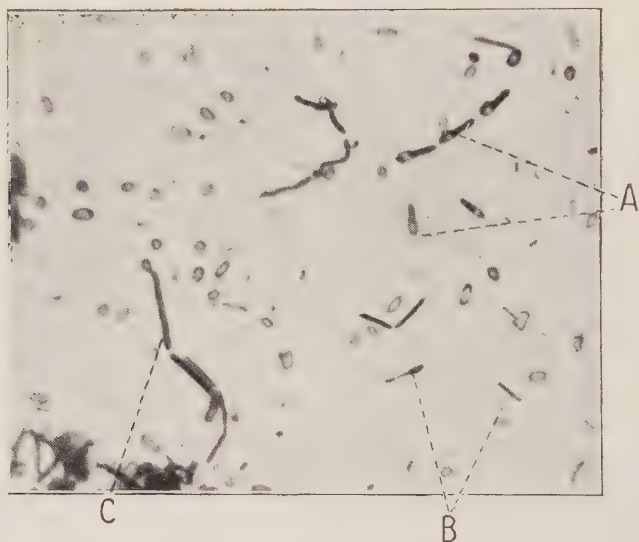
Emocoltura. — Brodo TAROZZI glucosato. — Sviluppo rigoglioso, odore scarso.

Brodo TAROZZI non glucosato. — Sviluppo meno abbondante: odore molto fetido, annerimento del frammento, gas in discreta quantità.

L'esame della coltura dopo 48 ore fornisce i seguenti risultati: (v. fig. pag. 614): germi sporulati, mobili, col tipo del germe iniettato (A); inoltre, germi

più sottili (B), con spora rigonfia a pera, paraterminale, mobili; infine, germi tozzi, in catena di 2-3 individui immobili, non sporulati (C) e cocchi: numerosissime spore libere, piccole, ovalari.

Nell'agar anaerobico, allestito colla brodo-coltura di 48 ore: colonie lenticolari, granulose col tipo del *B. perfringens*, coloniette a batuffolo, con centro opaco, scuro, in tutto somiglianti a quelle del germe putrido iniettato: qualche rada colonia di un germe sporificato, con spora a clava.



Coltura dal sottocutaneo. — Brodo TAROZZI non glucosato. — Odore fetido, sviluppo prevalente del germe tozzo e del germe iniettato, annerimento del frammento.

Coltura dal liquido peritoneale. — Brodo TAROZZI non glucosato. — Sviluppo abbondante di bastoncini e di cocchi.

Coltura dal liquido pleurico. — Brodo TAROZZI non glucosato. — Odore fortemente fetido. Sviluppo di germi mobili sporulati col tipo del germe iniettato; inoltre, qualche bastoncino tozzo, immobile, non sporulato.

Il brodo aerobio resta sterile

L'iniezione sottocutanea nella cavia dà i seguenti risultati:

1°) *Iniezione di liquido pleurico*, prelevato all'atto dell'autopsia e subito iniettato (1 cc. — Cavia di gr. 340).

Edema locale — rialzo termico — sopravvivenza.

2°) *Iniezione di emocultura* (1 cc. — Cavia di gr. 510). — Morte in 17 ore. Edema emorragico nel sotto-cutaneo e liquido ematico, torbido, nel peritoneo.

3°) *Iniezione di brodo-coltura dal sottocutaneo* (1 cc. — Cavia di gr. 310). — Morte in 14 ore: all'autopsia: edema emorragico del sottocutaneo: poco o punto liquido nel peritoneo.

4°) *Iniezione di brodo-coltura dal liquido peritoneale* (1 cc. — Cavia di gr. 320). — Elevamento termico, grossa bozza verdastra nel sito dell'inie-

zione: morte dopo 20 ore. *Autopsia*: cellulare sotto-cutaneo in isfacelo, muscoli rosso-violacei: liquido ematico nel sottocutaneo e liquido rossiccio nel peritoneo.

Le emocolture degli animali, di cui ai NN. 2, 3 e 4, risultano positive, con caratteri presso a poco eguali a quelli della cavia, che servì di punto di partenza.

Del reperto osservato, l'interpretazione più verosimile è che l'inoculazione endo-peritoneale, per azione combinata della bile e del germe, abbia provocato uno stato di flogosi della sierosa, con conseguente paresi e distensione delle anse intestinali. In forza di tali condizioni abnormi, implicanti alterazioni circolatorie e strutturali della parete intestinale, fu resa possibile la migrazione di germi dal lume dell'intestino nel cavo sieroso: di qui, passaggio in circolo e generalizzazione, resi più facili dal lungo periodo di sopravvivenza dell'animale (quasi quattro giorni). Si sarebbero, in altre parole, ripetuti fatti già noti in Clinica e documentati da esperienze di laboratorio, del passaggio cioè in circolo di germi contenuti nell'intestino, quando questo venga a trovarsi in condizioni di menomata resistenza o variamente leso nella sua compagine (*strozzamento erniario, ulcere intestinali*); eventualità che risulta ancor più comprensibile, quando si rifletta che, negli animali da esperimento, durante il periodo agonico è stato dimostrato il passaggio di germi intestinali nel sangue (CHVOSTEK ed EGGER).

Ulteriori esperienze colla bile-coltura del germe del 3° gruppo furono condotte, adoperando colture di varia età, da 2 a 6 giorni, ove il germe trovavasi bene sviluppato, rarissimamente sporulato; la coltura impiegata fu sempre nettamente acida.

I risultati furono i seguenti: tre cavie, inoculate sotto-cute con cc. 1-1,5 di bile-coltura di 48-72 ore, presentarono tutte una bozza cutanea di dimensioni considerevoli, nelle 48 ore; entro tale bozza il germe era presente in tipici elementi sporulati, come dimostra la figura della pag. 617 (cavia di gr. 470, 36 ore dopo l'inoculazione): l'esame culturale due volte riuscì puro pel germe iniettato: una volta questo trovavasi associato a cocci.

Questo liquido, iniettato sotto-cute, in quantità di circa $\frac{1}{4}$ di cc., produsse in una cavia (di gr. 330) tumefazione, arrossamento, cui seguì una vasta erosione cutanea.

Un'altra cavia, inoculata sotto-cute con coltura in brodo, allestita col materiale precedente, morì dopo 38 ore: all'*autopsia* si rilevarono fatti di distruzione del cellulare sotto-cutaneo, con presenza di liquido rossiccio, torbido. Al germe del 3° gruppo trovavasi associato un cocco.

Alcuni altri esperimenti infine vennero condotti, iniettando bile-coltura dell'anaerobio **M. F.**, isolato dalla ferita. Alla inoculazione di 2 cc. sotto-cute (cavie da 265 a 380 gr.) seguì formazione di una grossa bozza verdastra, che, rompendosi, fu sostituita da una perdita di sostanza imbutiforme, il cui fondo risultava formato da tessuto necrotico, giallastro, di aspetto quasi caseoso.

Le cavie controllo alle esperienze dell'anaerobio putrefacente del 3° gruppo ed a quelle dell'anaerobio **M. F.** furono iniettate sotto-cute con bile sterile, acidificata con acido lattico; e ciò allo scopo di metterci nelle condizioni più vicine agli esperimenti eseguiti con bile-coltura di reazione marcata-mmente acida.

I risultati furono completamente negativi: la reazione locale si limitò ad una zona molto circoscritta di edema, meno accentuata che non negli esperimenti con bile alcalina.

* * *

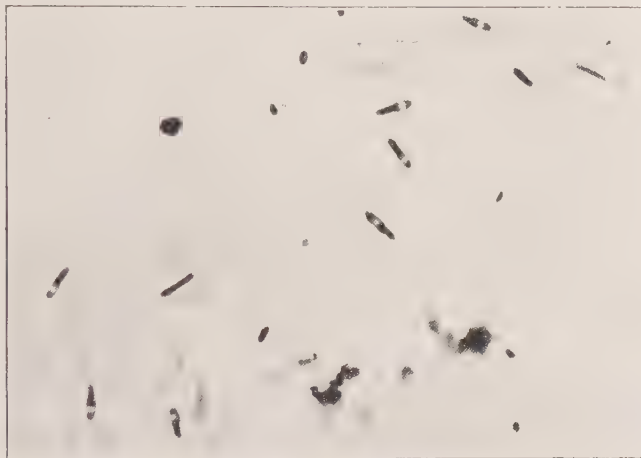
Gli esperimenti di virulentazione da me condotti offrono un contributo di fatti che non possono venire trascurati. Colla associazione di germi non patogeni a sostanze più o meno tossiche, sono stati riprodotti quadri patologici, talvolta di gravità considerevole, o, per lo meno, quadri locali e generali di entità molto superiore a quella conseguente all'inoculazione o del germe solo o della sola sostanza tossica: degno di speciale riguardo è il quadro provocato nella cavia 1.^a, inoculata con coltura del germe del 3.° gruppo *putrefacente*, associato al filtrato di essudato peritoneale di coniglio: il quadro putrido riprodotto fu, in questo esperimento, dei più caratteristici.

L'interassociazione fra i germi putrefacenti non patogeni condusse pure a qualche risultato degno di riguardo: notevole l'associazione dell'*anaerobio putrefacente del 3° gruppo* col *putrefacente R^b*.

L'interassociazione fra l'*anaerobio putrefacente del 3° gruppo* e lo *streptococco* fu seguita costantemente da esito letale, con fatti di ipotermia precoce: il periodo di sopravvivenza fu inferiore alla metà di quello constatato negli animali inoculati colla sola coltura di streptococco; una volta soltanto il processo ebbe carattere putrido: in ogni caso furono accentuate o predominanti le note dello streptococco (essudato peritoneale fibrinopurulento). Il quadro putrido invece si ottenne nell'esperimento di inoculazione: *anaerobio putrefacente* + *putrido R^b* + *streptococco*.

Nella associazione di due *anaerobi putrefacenti* col *vibrione settico*, il quadro predominante fu quello di quest'ultimo: si

notarono però lievi fatti putridi nel cellulare sottocutaneo nei casi, nei quali la sopravvivenza fu piuttosto lunga (26 ore): nel sangue, oltre il *vibrione settico*, si trovarono ora i due putridi (2 volte), ora uno soltanto di essi (R^b).



Le esperienze eseguite colle inoculazioni di *ascite* e *bile-coltura* riuscirono non prive di interesse: di speciale riguardo, gli effetti ottenuti colla inoculazione di *bile-coltura* del germe R^b , ora per i fatti distruttivi locali, ora, e il più spesso, per le gravi conseguenze generali.

Per due dei tre germi restanti (*anaerobio putrefacente del 3° gruppo*, *anaerobio non putrido M. F.*), sottoposti ad esame, notevoli furono pure e costanti i fatti locali, consecutivi alla inoculazione di *bile-coltura*, in confronto di quelli, scarsi o pressochè nulli, conseguenti alla inoculazione di *coltura in brodo*.

In base ai risultati ottenuti, non è forse appropriato parlare di virulentazione del germe, col significato che alla parola dovrebbe andare connesso: il germe, di fatti, non acquistò una virulenza intrinseca, perchè, iniettato o direttamente col sangue del cuore o per mezzo del tessuto dell'animale deceduto (muscolo) o sotto forma di coltura in brodo, allestita col sangue o col fegato, non estrinsecò capacità patogene più accentuate di quelle ad esso abituali. Parrebbe quindi doversene piuttosto dedurre che le combinazioni effettuate, ora sotto forma di associazione del germe a liquidi tossici, ora sotto forma di col-

tura in determinati liquidi, abbiano provocato modificazioni nel terreno ospite, tali da creare nel microrganismo capacità offensive transitorie, con un meccanismo che potrebbe forse trovare una spiegazione nelle considerazioni da noi fatte nel capitolo riguardante l'interpretazione del germe come fattore di infezione. Gli esperimenti di inoculazione di coltura in *brodo* + *bile* possono dare parvenza di logicità a questo nostro concetto.

CAPITOLO III.

Ulteriori considerazioni sul processo anatomo-patologico.

Dei fatti macroscopici più evidenti già fu fatto cenno in principio, a proposito sì delle biopsie, che delle necrosopie.

Delle alterazioni istologiche, quelle del tessuto muscolare fissarono in prevalenza l'attenzione degli studiosi e buone cognizioni al riguardo ci derivano da varie fonti (v. HIBLER, FRÄNKEL e KAMEN, LEGROS, BASHFORD, RONCALI ecc. ecc.). In base a quanto fu scritto e sulla guida dei nostri risultati sperimentali esse possono venire in tal modo riassunte:

Le fibra muscolare si presenta in un primo tempo rigonfia, per edema inter ed intrafascicolare: questo talvolta è tanto pronunciato da comprimere fortemente i fascetti. Il perimisio appare quasi inspessito, spesso difficilmente colorabile. A tali fatti iniziali altri ne seguono di varia intensità, sotto forma di picnosi, cariorexi e talvolta distruzione totale dei nuclei del sarcolemma, scomparsa delle striatura trasversale e, più tardi, di quella longitudinale. La fibra muscolare assume un aspetto omogeneo e presenta spesso le note della degenerazione ialina, più raramente della cerea (LEGROS); segue vacuolizzazione, frammentazione e, come risultato finale, la necrosi.

Ma non sempre a questa si arriva ed il processo, almeno negli animali da esperimento, si arresta nella fase della vacuolizzazione, nella quale la fibra muscolare presenta numerose cellette, che, confluendo, impartiscono ai fascetti un aspetto quasi cribroso. Le cellette racchiudono globuli rossi, in diverso grado di conservazione e pigmento; i germi sono variamente numerosi.

Nelle infezioni da *B. perfringens*, il quadro istologico da noi riassunto trova la sua più marcata espressione: i fatti degene

rativi e necrotici sono quasi sempre molto accentuati: notevoli i fatti emorragici inter ed intrafascicolari. Nelle infezioni da *B.* del gruppo *V. settico* predominano i fatti di edema e di degenerazione della fibra; notevole, in qualche caso, l'emorragia inter ed intrafascicolare.

Le alterazioni del connettivo consistono nella degenerazione ialina. Le cellule adipose non raramente appaiono fortemente vacuolizzate, frammentate o digerite; a notarsi, per uno stipite molto virulento di *perfringens*, da me distinto colla denominazione di *B. miolitico*, la scarsità delle reazioni locali del muscolo, di fronte alla imponenza dei fatti distruttivi, sotto forma di digestione totale, oltre che del muscolo, delle aponevrosi e del peritoneo. Negli animali iniettati sotto cute e morti dopo 8 - 12 ore, con frequenza e quasi con costanza l'intestino, segnatamente il crasso, sporge attraverso una o più aperture, che dal diametro di una moneta di un centesimo arrivano a quello di due.

Il comportarsi delle vene di piccolo e di medio calibro non è uniforme. Non è raro il caso che esse siano trombosate in immediata vicinanza del focolaio. PRIBRAM ritiene che la capacità del sangue a coagulare, nelle gangrene gassose, sia aumentata; ma WIETING è di opposto parere.

Certo si è che il fatto, comunque si verifichi, rappresenta, in tesi generale, una conseguenza e non una causa della gangrena e nei casi in cui si può mettere in evidenza, esso coesiste ad alterazioni dell'endotelio e talvolta anche dell'intera parete vasale, lesioni che rappresentano il primo passo verso il quadro generale delle alterazioni delle membrane endoteliali.

La questione della *metastasi* ha attratto l'attenzione, per il numero di casi non indifferenti nei quali il fatto è stato constatato nel corso della guerra. La possibilità del trasporto e diffusione del germe a distanza era già stato prospettato dallo stesso FRÄNKEL, quando nel 1912 egli comunicava di avere isolato dal sangue di una donna, ammalata di febbre puerperale il *B. phlegmonis emphisematosae* ⁽¹⁾. FRÄNKEL aggiungeva che, data la possibilità che il germe si trovi nel sangue vivente, non può recar meraviglia se esso riesce a fissarsi nei tessuti, standovi un focolaio gangrenoso. LINDENTHAL e HITSCHMANN con-

(1) Caso di LENHARTZ.

fermarono pure la presenza del germe nel sangue circolante, sia nei preparati di sangue a striscio, che nelle emocolture: tuttavia, rigettarono la possibilità di fissazione e di *metastasi*.

Intanto le osservazioni di casi ad emocoltura positiva *intra vitam* per germi del gruppo *perfringens* venivano moltiplicandosi, segnatamente nel campo delle infezioni puerperali (BONY, BINGOLD, WEITZ), mentre le relazioni di casi di metastasi nelle infezioni gassose di guerra, per opera di PAYR, MARQUARDT, RANFT, RUPP, HANASIEVICZ, HEIDLER, HARTLEY, TAYLOR, VOGEL, SCHONBAUER, KEHL, SIEGERT, WEINBERG e SÉGUIN, WIETING, quantunque non tutte esaurientemente documentate dal lato batteriologico, venivano a corroborare le osservazioni di MENEUREUL (1895) e di WELCH (1900), il primo dei quali ritenne doversi trattare, nel suo caso, di una metastasi da *vibrione settico*, proveniente dall'intestino, affetto da ulcera tubercolare; mentre il secondo individualizzava, nel focolaio metastatico dei suoi tre casi, il *B. perfringens*.

Nelle recenti osservazioni di *metastasi*, il germe identificato nel focolaio locale e, qualche volta, anche nel sangue circolante, fu il più spesso il *B. perfringens*: SCHONBAUER però parla di un germe del gruppo dell'*edema maligno*; KEHL, in uno dei suoi due casi, identificò il germe col *B. dell'edema maligno*, GRAM-negativo di E. FRÄNKEL; WEINBERG e SÉGUIN trovarono un focolaio bronco-polmonare da *B. fallax*, in un soldato ferito alla coscia.

Nel caso nostro il germe, trovato nel focolaio e nel sangue del cadavere, fu identificato col nostro gruppo 2°.

Dalla maggior parte degli AA. la *metastasi* è considerata come un effetto del trasporto del germe per via sanguigna ed il punto di partenza sarebbe rappresentato da vene trombosate ed infette; PRIBRAM, SCHOTTMÜLLER, KAUSCH opinano in questo senso; altri invece invocano la via linfatica (COENEN) o la via sanguigna e la via linfatica, quest'ultima anche nel senso centrifugo (MARQUARDT).

Nei due casi di KEHL pare mancasse il legame di continuità tra il focolaio di ferita ed il focolaio metastatico, inquantochè il primo non conteneva il germe, esistente invece nel secondo.

Nel nostro caso, come fu osservato alla necropsopia, venne in luce un focolaio alla coscia, oltre quello della regione glutea, osservato in vita: nel focolaio della coscia esisteva la trom-

bosi di un ramo venoso di mediocre calibro, attorno al quale il tessuto connettivo e qualche fascetto muscolare presentavansi aereati ed imbevuti di liquido sanguinolento.

Il sito più frequente segnalato per la *metastasi* è la regione *glutea* o la *sacro-lombare*: in genere, le regioni sottoposte a maggiore pressione, per l'atteggiamento del corpo.

Non mancano però casi di *metastasi* alla *testa*, al *gomito*, al *ventre*; notevolmente numerose sono le localizzazioni al *piede*, anche del lato opposto a quello ferito: il che, come nel caso di SCHONBAUER, porta di conseguenza ad ammettere il trasporto per via ematica: notisi che, in tale osservazione, a livello della ferita non esistevano segni di infezione gassosa.

La via di trasporto risulterebbe meglio lumeggiata se ricerche sistematiche fossero condotte sul sangue e specialmente nei feriti con manifestazioni metastatiche, multiple: ricerche, che, dice KEHL, non furono eseguite che in un numero molto limitato di casi.

Alla stregua delle alte percentuali di emocolture positive *in vivo* nelle infezioni gassose classiche (KLOSE, FIORI, WEINBERG e SÉGUIN) può colpire la scarsità delle osservazioni di *metastasi*; il fatto però può spiegarsi anzitutto colla brevità del decorso, sempre letale nei casi di generalizzazione del *B. del vibrione* o *edema maligno* (WEINBERG e SÉGUIN, KEHL, ANDERSON e RICHARDSON, FIORI) o quasi sempre nei casi di generalizzazione del *B. perfringens* (nei casi guariti di KLOSE il germe non fu identificato con esattezza); in secondo luogo, colla mancanza di ricerche necroscopiche, sistematiche e complete. Se le ricerche sul cadavere, e, come le nostre attuali, quelle sull'animale da esperimento fossero condotte in modo schematico, specialmente dal lato istologico, verosimilmente potrebbero venire in luce fatti, tali da sempre meglio valorizzare i reperti del sangue. A questo scopo io ho condotto una serie di ricerche istologiche dirette a mettere in evidenza l'eventuale compartecipanza delle membrane endoteliali, dei vasi sanguigni e linfatici, dell'endocardio; e qualche risultato può già fin d'ora far pensare che localizzazioni a distanza *intra vitam* sieno molto più frequenti di quanto pel passato venne ritenuto: la *metastasi* perderebbe quindi il suo significato epidemico, per acquistare valore di complicità non infrequente, nel quadro clinico ed anatomico delle infezioni gassose.

* * *

Lo sviluppo di germi anaerobi nelle grandi sierose e specialmente nelle pleure fu oggetto di ricerche batteriologiche nel corso della guerra. LÄWEN e HESSE riferiscono su 11 casi di ferite del torace, spesso interessanti contemporaneamente il polmone (6 volte), nelle quali, nel sangue aspirato dal cavo pleurico, fu messa in evidenza la presenza di anaerobi, talvolta patogeni per l'animale da esperimento, ora soli, ora associati a germi aerobi: in 5 casi trattavasi di infezione mono-anaerobica. Analogamente, PFEIFFER e BESSAU riportano un caso di ferita della pleura da scheggia di granata, nel quale, dal sangue stravasato nel cavo, isolarono il *B. perfringens* in coltura pura. Tale constatazione riesce interessante ed induce a studiare le modalità di sviluppo del germe in un ambiente, secondo alcuni, poco favorevole. MARWEDEL in nove casi avrebbe isolato dal sangue, stravasato nella pleura, germi anaerobi, coll'aspetto di quelli della gangrena gassosa: tali germi non risultarono patogeni per gli animali: l'A. ne conclude pel potere battericida dell'endotelio pleurico. In mancanza di una identificazione dei germi isolati, l'affermazione di MARWEDEL resta nel campo di una pura ipotesi. In due nostri casi clinici (ferite della base toracica) e nelle osservazioni sperimentali, nelle quali fu utilizzato il liquido eventualmente esistente nel cavo pleurico, l'iniezione sotto-cutanea del liquido, contenente gli stipiti del gruppo del *perfringens*, risultò sempre altamente virulenta e rapidamente mortale.

Del resto, parecchie osservazioni (MARWEDEL, RITTER, LÄWEN e HESSE) stanno a dimostrare che l'anaerobio può svilupparsi nel sangue endo-pleurico, con formazione di gas, talvolta abbondantissimo. Niuna meraviglia, quindi, che in questo stato di cose possano inscenarsi lesioni dell'endotelio pleurico. Su di esse però, come su quelle del peritoneo, del pericardio e delle meningi, occorrono ulteriori ricerche, per parte nostra attualmente in corso.

Lesioni notevoli sono quelle che si riferiscono al fegato, al rene e, specialmente per alcuni tipi di germi, ad es. l'*oedematiens*, alle capsule surrenali.

Nel fegato, bene spesso, particolarmente nelle infezioni da *perfringens*, esistono fatti di necrosi della cellula epatica o, quanto meno, di alterazioni nucleari avanzate; sempre spiccati i fatti di rigonfiamento torbido: vasi considerevolmente dilatati; non infrequentemente, stravasi emorragici: nel connettivo periportale, infiltrazione nucleare; analogamente, attorno ai vasi biliari.

Nei reni, fatti vascolari quasi sempre imponenti, con stravasi emorragici, specialmente nella corteccia; epitelio della capsula di BOWMANN spesso sfaldato; epitelio dei canicoli, segnatamente dei contorti e dell'ansa di HENLE, con note di rigonfiamento torbido, o, più raramente, di degenerazione granulo-grassa; talvolta picnosi e cariorexi del nucleo; l'osservazione di globuli rossi nell'interno del lume è rara.

Le capsule surrenali, quasi sempre notevolmente congestionate, presentano note di cromatolisi, specialmente nelle cellule della midollare. ALBRECHT accenna alla diminuzione in contenuto lipideo, mentre GOORMAGTIGH parla di un aumento della cromaffinità nella sostanza midollare, quantunque, in linea di massima, siasi condotti a ritenere che il contenuto adrenalinico delle capsule nei casi gravi di infezione gassosa, sia inferiore alla norma: la prova biologica di EHRMAN (azione del siero di sangue sull'occhio della rana) però non è sufficientemente precisa per la dimostrazione del contenuto adrenalinico nel sangue circolante ed i risultati comparativi da me ottenuti non autorizzano a conclusioni sicure.

Nei polmoni, si osservano, talvolta, focolai di congestione, con stravasi emorragici; in qualche caso si può dimostrare la presenza di infarti: negli alveoli, qualche ammasso fibrinoso, misto a leucociti polinucleati ed a qualche globulo rosso. In un cane, inoculato sotto cute con emulsione di *perfringens* e venuto a morte dopo 11 giorni, rilevai la presenza di grossi noduli, la natura dei quali abbisogna di essere ulteriormente lumeggiata.

Le alterazioni anatomiche del sistema nervoso centrale necessitano di ricerche ulteriori, date le divergenze dei risultati da parte degli A. A. che se ne sono specialmente occupati (ANDERS, E. FRÄNKEL e WOHLWILL).

Le nostre indagini furono condotte in modo sistematico sul cervello, ponte, midollo allungato e, a diverse altezze, sul midollo spinale; stante i risultati incompleti, ci asteniamo, pel

momento, dal riferirne, limitandoci ad osservare che la nota più manifesta è costituita dall'infiltrazione leucocitaria attorno ai vasi della nevroglia, specialmente nel midollo. Nella meninge sono quasi sempre spiccati i fatti di replezione vascolare.

Le alterazioni del sangue sono di grado diverso a seconda del germe e, segnatamente pel *perfringens*, anche a seconda degli stipiti. Nelle infezioni sperimentali, con coltura totale in brodo MARTIN glucosato o in brodo al fegato alcuni campioni di *perfringens* provocano un'imponente emoglobinemia e, specialmente nel coniglio (iniezione endovenosa), anche una distruzione di globuli rossi. Di questo potere emotossico è esponente la colorazione verdastra o verde-malachite degli animali, morti in preda a questa infezione: nel coniglio, iniettato in vena con coltura totale di 24 ore, si possono rilevare le modificazioni del sangue durante il periodo di sopravvivenza: specialmente se questo va oltre la 24^a - 30^a ora.

Queste modificazioni consistono in decolorazione del globulo rosso, del quale, nei preparati a striscio non colorati, spicca lo stroma su fondo pallido; diminuzione ed alterazione di conformazione degli eritrociti, presenza di forme di passaggio e di qualche normoblasta; inoltre, *leucocitosi* con *polinucleosi* accentuata.

La coagulabilità del sangue, contrariamente a quanto ritiene WIETING, non sarebbe diminuita, anzi, in qualche caso, sarebbesi indotti a ritenere che essa sia aumentata, giacchè, già dopo pochi istanti dalla morte, il cuore destro ed il sistema delle cave, sono occupati da coaguli tenaci: in un secondo tempo, però, avviene rapida dissoluzione del coagulo, tanto che i tessuti dell'animale, lasciati a temperatura ambiente, già dopo qualche ora, vengono a trovarsi immersi in forte quantità di liquido nerastro, fluente dalle vene addominali e toraciche. I visceri ed i tessuti esterni vengono così ad assumere un colorito nero-piceo; si assiste cioè al ripetersi del fenomeno in *vitro*, ove la laccatura del sangue umano, insemato con coltura di *perfringens*, è preceduta dalla coagulazione massiva, spesso senza separazione di siero.

Nel coagulo intravascolare, qualche ora dopo la morte, è possibile osservare fenomeni di aereazione, eccezionali all'atto dell'autopsia.

Nelle infezioni da germi del gruppo del *vibrione settico*, le note emotossiche sono meno pronunciate; per converso, esse sono forse più costanti e uniformi, pel complesso dei vari cam-

pioni. La *leucocitosi* è quasi sempre di grado evidente; anche qui predomina la *polinucleosi*. Per l'osservazione si presta bene il coniglio, potendosi in questo animale ottenere periodi abbastanza lunghi di sopravvivenza: in uno di questi animali, iniettato sottocute e sopravvissuto 50 ore, nelle fasi finali e precisamente dopo la 40^a ora, si osservò *leucopenia*.

Post mortem, il dissolvimento del sangue è meno precoce ed accentuato, il colorito dei visceri non arriva quasi mai alla tonalità nero-picea, che si osserva con tutta frequenza per alcuni stipiti del *perfringens*.

Pei germi del gruppo Novy le alterazioni del sangue sono meno accentuate che nei due gruppi precedenti: talvolta però uno stesso stipite si dimostra capace di potere emotossico variabile.

I fatti anatomici delle infezioni gassose consistono in un complesso di fenomeni (lesioni nucleari e protoplasmatiche, alterazioni della sostanza intercellulare fino allo sfacelo ed alla dissoluzione), i quali parlano ben chiaro per i profondi perturbamenti, apportati in seno ai tessuti, dalle tossine circolanti; dei visceri e tessuti, nessuno, si può dire, sfugge all'offesa tossica e tutti i sistemi più nobili vi sono interessati. Fra le alterazioni più spiccate sono a segnalarsi quelle del fegato, dell'apparecchio renocapsulare e del cuore (fibra muscolare ed endocardio).

Le alterazioni del sangue sono spiccatissime, ma di grado non uniforme. Il significato della *leucocitosi* non è stato fin qui esaurientemente interpretato: trattasi, verosimilmente, di una *leucocitosi tossica*, analoga a quella che si verifica in avvelenamenti per sostanze chimiche: in tesi generale il fenomeno dovrebbe prestarsi a pronostico favorevole, se la esistenza di accentuata leucocitosi non fossesi constatata con frequenza nei quadri clinici più gravi e non risultasse pressochè costante negli animali da esperimento, avviati all'esito letale. Vero è che, come sopra fu notato, negli animali da esperimento, che sopravvivono relativamente a lungo, si può notare anche una *leucopenia* nelle ultime ore di vita.

Dell'avvelenamento a tipo emolitico o, meglio, eritrocitolitico è espressione la diminuzione dell'alcalinità del sangue, che A. E. WRIGTH e A. FLEMING spingono fino quasi al grado di una vera *acidemia*.

CAPITOLO IV.

Immunità.

Da tempo, in medicina veterinaria, e cioè dopo le ricerche di ROUX (1888), KITT (1893), DUENSCHMANN (1894), LECLAINCHE e VALLÉE (1900), la vaccino-profilassi e la siero-terapia hanno fornito soddisfacenti risultati contro il *carbonchio sintomatico*; ed i primi tentativi di ROUX avevano prospettato anche la possibilità che le *cavie*, vaccinate contro questo germe, divenissero immuni anche di fronte al *virione settico*. Le ricerche ulteriori, istituite a questo riguardo mediante le prove della neutralizzazione crociata, non hanno condotto a risultati uniformi da parte degli A. A. che si sono occupati dell'argomento (KITASATO, LECLAINCHE e VALLÉE, MARKOFF, F. MEYER ecc.), e noi stessi abbiamo ottenuto esiti negativi col campione di *C. sintomatico* (C. S. II), che corrispondeva ai caratteri comunemente accettati nella sistematica di questo germe. Probabilmente, la ragione della controversia sta nel fatto, che, colla denominazione di *C. sintomatico* si sono accomunati anaerobi diversi, del che farebbero fede i risultati derivati dalle nostre ricerche sul *C. S. I.*, isolato dai muscoli *neri* di una vacca e provvisto di caratteri che lo rendono affine, se non del tutto identico, ai bacilli del gruppo del *V. settico*: in questa guisa potrebbesi spiegare il caso di FURTH, il quale avrebbe isolato, da un ferito in preda a gangrena gassosa mortale, un germe, dall'A. indentificato col *B.* del *C. sintomatico*.

I primi tentativi di immunizzazione sperimentale contro il *V. settico* risalgono a ROUX e CHAMBERLAND (1887), i quali riuscirono a rendere immuni le *cavie*, iniettando colture del germe, sicuramente ucciso col calore e sierosità patologiche, filtrate alla candela di porcellana: sì nell'un caso che nell'altro le iniezioni furono ripetute ed in dose abbastanza generosa. LECLAINCHE (1898) e poi LECLAINCHE e MOREL (1901) dimostravano meglio la possibilità di ottenere siero immunizzante dall'*asino*, preparato con iniezione endovenosa di piccole quantità di liquido di edema e di tessuti patologici o di colture in brodo MARTIN: il siero, così ottenuto, dimostrò capacità preventive - neutralizzanti, di durata transitoria, per la *cavia* e pel *coniglio* ed anche proprietà, sebbene molto deboli, curative.

Contro il *B. perfringens*, ROSENTHAL nel 1910 otteneva buone proprietà preventive dal siero di cavallo, preparato con iniezioni endovenose di colture vecchie, filtrate attraverso filtri molto porosi, in modo da lasciar passare anche i corpi bacillari: i tentativi di E. FRÄNKEL, invece, riuscirono negativi.

Nel corso della guerra le ricerche furono intensificate; RAPHAEL e FRASEY (1915), KLOSE (1916), ASCHOFF, in collaborazione con ERNST FRÄNKEL, KONIGSFELD e FRANKENTHAL (1916), BULL e PRITCHETT (1917) riuscirono a preparare *siero-antibrione*, *anti-perfringens* ed *anti-Gasödem*. WEINBERG e SÉGUIN conseguirono notevolissimi risultati colla preparazione di sieri neutralizzanti *anti-ribrione*, *anti-perfringens* ed *anti-oedematiens*; questi sieri spiegarono anche deboli proprietà curative. Fra noi FASIANI ha, del tutto recentemente, reso noti i risultati delle sue ricerche. A notarsi che il siero ottenuto da questo A. contro il *B. perfringens* ed il *B. dell'edema maligno*, nel senso di GHON e SACHS, si dimostrò provvisto di buone proprietà preventive (oltre che neutralizzanti) e di qualche proprietà curativa: spiccate le proprietà neutralizzanti sulla tossina. I risultati col siero *anti-Novy* furono meno favorevoli.

Dal *coniglio* e dal *cane*, preparati con iniezioni sotto-cutanee di brodo-cultura di 24 ore, attenuata col calore o virulenta, io ottenni un siero *antiperfringens*, *antitossico* ed *anti-infettivo*; il trattamento, specialmente nel *coniglio* richiese grandi precauzioni e lungo tempo, con notevole percentuale di insuccessi: nel corso della preparazione venne a morte anche uno dei tre *cani* in estrema cachessia. Il siero alla dose di 1/10 di cc. neutralizza gli effetti della iniezione endovenosa, nella *cavia* di 450-500 gr., di 1 e 1/2-2 cc. di tossina: 1 cc. di coltura in *toto* viene neutralizzato da 1/4 di cc. di siero.

Un siero *anti-tossico* ed *anti-infettivo* fu pure preparato col germe del 1° gruppo, sottoponendo il *coniglio* ad iniezioni sotto-cutanee bisettimanali di coltura in brodo di 12 ore, scaldata a 70° per 30': il trattamento veniva iniziato con molta prudenza, inoculando 1/20 di cc. di coltura ed in seguito procedendo con dosi progressivamente crescenti, fino ad 1/5 di cc.: con tutto ciò parecchi animali vennero a morte: la preparazione fu quindi proseguita colla inoculazione di coltura centrifugata.

Nel *cane*, l'inoculazione, iniziata con coltura giovane scaldata a 70°, veniva proseguita settimanalmente con coltura

virulenta per circa 6 mesi, a dosi da 1/5 a 1 cc.; per *cani* di 8 Kg. di peso.

Il siero, così ottenuto, alla dose di 1/50 di cc. neutralizza gli effetti mortali, di 1/2 cc. di coltura totale nella cavia di 400 gr. di peso. La sua efficacia però è notevolmente inferiore a quella del siero ottenuto da WEINBERG e SÉGUIN e da FASIANI, nel cavallo.

Col siero *anti-perfringens* ed *anti-edema* del 1° gruppo, preparato come sopra e col siero *anti-perfringens* ed *antivibrione* dell'Istituto Pasteur io condussi alcune esperienze dirette a studiare:

1°) il potere profilattico anti-infettivo;

2°) il potere curativo;

3°) la durata dell'immunità negli animali sottoposti alla prova della neutralizzazione (*iniezione sotto-cutanea di miscela: coltura totale e siero immunizzante*).

I. - ESPERIENZE COL B. PERFRINGENS.

Furono eseguite collo stipite molto virulento N. 10.

Siero-profilassi. — Le *cavie* vennero preparate con tre iniezioni sotto-cutanee di 1 cc. di siero, eseguite a distanza di 48 ore l'una dall'altra: la durata complessiva del trattamento, così, fu di 6 giorni.

Undici furono iniettate con 1/2 cc. di coltura di 24 ore a distanza di 8, 16, 32, 63, ore, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 12 giorni: dieci sopravvissero, alcune presentarono fenomeni talvolta gravi (tendenza alla ipotermia, susseguente ad un periodo di iperpiressia: interessante fu lo studio del sangue, nei riguardi delle modificazioni della formula leucocitaria, specialmente in alcuni casi (cavia iniettata alla 63ª ora). La cavia iniettata alla 63ª ora venne a morte in 5ª giornata.

Siero-terapia. — Sei cavie, inoculate con 3/4 di cc. di coltura in brodo di 24 ore, vennero successivamente trattate con una o più iniezioni di 2 cc. di siero alla distanza di 10, 8, 7, 6, 5, 4 ore: il siero adoperato fu quello dell'Istituto Pasteur; l'inoculazione veniva praticata nel focolaio di iniezione della coltura.

Tutte le cavie morirono, le prime 3 (10, 8, 7 ore) nel tempo presso a poco dei controlli: nelle 3 restanti il decorso fu note-

volmente più lungo, fino a 23 ore, mentre le cavia controllo morirono tutte entro le 12 ore. Dei sei esperimenti, merita venire riferito quello riguardante la cavia sottoposta a trattamento sierico alla 4^a ora.

28 ottobre 1919 - ore 9,40 - Cavia di gr. 315: T. 38°,2. — Iniezione sottocute di $\frac{3}{4}$ di cc. di coltura di 24 ore in brodo MARTIN.

Ore 13,40 - T. 38°,1. — L'animale non si regge sugli arti posteriori, ha il pelo arruffato sul collo e sulla testa ed ha qualche scossa. Afferrato, non reagisce: segni evidenti di astenia: leggera polipnea.

Vengono iniettati nel focolaio 2 cc. di siero.

Ore 16,50 - T. 38°. — L'animale ha riacquisito una notevole vivacità; il pelo non è più arruffato.

Ore 18,40 - T. 38°,3. — Le condizioni generali sembrano effettivamente migliorate; l'animale corre per la gabbia e mangia: le condizioni locali si mantengono stazionarie. Per tale stato di cose non si ritiene necessaria una seconda iniezione di siero.

Nelle ore successive l'animale si mantiene vivace: ore 22 - T. 38°,1.

29 ottobre 1919 - ore 7. — Si trova l'animale fortemente peggiorato: non si regge sugli arti - T. 32°.

Localmente: voluminosa bozza aerea. Si pratica una 2^a iniezione di 3 cc. di siero in peritoneo.

Ore 10: morte. — *All'autopsia*: sulle note di sfacelo muscolare predominano i fatti emorragici.

Emocultura: positiva.

Il caso offre interesse perchè mette in evidenza l'influenza indiscutibilmente benefica esercitata dalla prima iniezione di siero. È a chiedersi se una seconda iniezione più tempestiva e magari per via endovenosa o endo-peritoneale non avrebbe potuto salvare l'animale.

Una settima cavia, fu inoculata con siero, 2 ore dopo l'inoculazione della coltura ($\frac{2}{3}$ di cc. - cavia di gr. 360). Nelle sei ore successive furono praticate altre 2 iniezioni di 2 cc. siero, delle quali una entro il peritoneo. L'animale sopravvisse, dopo avere presentato sintomi discretamente gravi, parte dei quali avrebbero potuto imputarsi anche al trattamento sierico.

Durata dell'immunità negli animali sottoposti alla prova della neutralizzazione (iniezione di coltura + siero anti-perfringens).

Due animali, riiniettati con coltura di 24 ore a distanza di 52 e 41 giorni, morirono nello stesso spazio di tempo dei controlli.

II. - ESPERIENZE COL GERME DEI PRIMI QUATTRO GRUPPI PATOGENI

Siero-profilassi. — Tre cavie, preparate con una sola iniezione sotto-cutanea di siero ed inoculate, a distanza di 8, 24, 32 ore con $3/4$ di cc. di coltura di 24 ore, sopravvissero: l'unico fenomeno fu un rialzo termico: nessuna presentò accenno a ipotermia. Localmente nulla. I controlli morirono in 15-17 ore.

Tre altre cavie, preparate con 2 iniezioni di 1 cc. di siero sotto-cute, eseguite a distanza di 24 ore l'una dall'altra, furono inoculate con 1 cc. di coltura rispettivamente dopo 64 ore, 5, 11 giorni: sopravvissero.

Anche qui lo studio del sangue dimostra fatti interessanti.

Siero-terapia. — Si dimostrò efficace quando venne praticata nelle prime 3 ore: dalla 4^a ora in poi, l'iniezione di siero non servì che a prolungare il decorso (fino a 23 ore).

Durata dell'immunità negli animali sottoposti alla prova della neutralizzazione (iniezione di coltura + siero anti-vibrienne settico).

I risultati non furono uniformi.

Due cavie, rispettivamente dopo 24 e 32 giorni, sopportarono impunemente l'iniezione di 1 cc. di coltura, mortale in 12 ore, alla dose di $1/2$ cc., per l'animale controllo.

Altri due animali invece, iniettati dopo 23 e 15 giorni dalla prova della neutralizzazione (germi del 1° e 2° gruppo), morirono in poche ore.

Infine, una cavia viene iniettata sotto-cute, a distanza di 6 giorni dalla prova della neutralizzazione, con 1 cc. di brodo-coltura di 48 ore: l'animale non dà segni di risentimento apprezzabile: nel punto di iniezione si determina una soluzione di continuo molto superficiale, che ripara sotto crosta: a distanza, sulla linea mediana dell'addome e della parte inferiore del torace, si assiste poco a poco alla caduta del pelo ed alla comparsa di aree di necrosi epidermica, che lentamente riparano sotto crosta.

In 9^a giornata da quest'ultima iniezione e, cioè a distanza di 15 giorni dalla prova della neutralizzazione, l'animale riceve sotto cute 1 cc. di brodo-coltura di 72 ore.

Nelle prime 24 ore non sembra risentirsi minimamente e l'unico sintomo consiste in un rialzo termico: verso la 30^a ora l'animale appare meno vivace: alla 26^a ora muore quasi improvvisamente.

L' *autopsia* mette in rilievo quanto segue:

Lesioni cutanee, in guarigione avanzata sotto crosta: nel cellulare sottocutaneo della parte mediana dell'addome, essudato cotennoso, non recente: inoltre liquido ematico in scarsa quantità, muscoli scuri, quà e là con zone di rammollimento, gas.

Addome. — Nel peritoneo, assenza di liquido, il colorito della sierosa è lievemente più roseo del normale:

Fegato. — Scuro.

Milza. — Rossa.

Reni. — Di colorito alquanto più carico; capsule surrenali con zone emorragiche;

Torace. — Nulla di notevole.

Asse cerebro-spinale. — Fatti congestizi alla base.

Bacterioscopia. — Nel cellulare sottocutaneo qualche germe isolato o a due; sulla superficie del fegato rarissimi bastoncini sottili, isolati: assenza di filamenti o di forme filamentose.

Emocoltura. — Positiva.

Per quanto riguarda l'azione profilattica anti-infettiva, i risultati furono abbastanza favorevoli: il che si accorderebbe colle osservazioni cliniche di VAUCHER e con quelle di RUMPEL: quest'ultimo, dopo le iniezioni preventive di siero, vide diminuire la morbilità per infezione gassosa, nei feriti di guerra, dal 3 al 0,6 %.

Nell'animale iniettato alla 63^a ora dall'iniezione preventiva e morto tardivamente (5^a giornata), è logico attribuire l'esito ad una reazione immunitaria insufficiente, mancando le basi per spiegarlo colla eventuale presenza di spore, assenti nel materiale iniettato (*perfringens*).

Non uniformi, i risultati ottenuti negli animali sottoposti alla prova della neutralizzazione e susseguentemente riiniettati: alcuni, come si disse, furono nettamente favorevoli. Per gli animali sopravvissuti alla reinfezione però, non è facile scindere la parte spettante al siero da quella dovuta al germe, in funzione di fattore vaccinante, mentre per gli animali deceduti è logico dedurre che l'una e l'altra sia mancata o esistita in modo insufficiente.

La siero-terapia sperimentale fu eseguita con scarso successo: dobbiamo anzi ricordare un fatto non privo di interesse.

Una robusta cavia di g. 490, 2 ore dopo avere ricevuto sottocute 1 cc. di coltura in brodo, di 20 ore, del 1^o gruppo, viene iniettata con 1 cc. di antisiero. Dopo 2 giorni di rialzi termici, l'animale rientra nel suo stato normale; il controllo muore in 12 ore.

Undici giorni dopo, inaspettatamente, l'animale emette dei gridi e fa dei salti per la gabbia: la temperatura è in lieve rialzo. Localmente, nulla.

La mattina del 12° giorno l'animale muore.

All' autopsia: quadro edemo-emorragico classico, con filamenti nel peritoneo: macroscopicamente non si riscontra alcuna lesione dei visceri dell'addome.

La spiegazione può essere duplice e cioè, 1°: o all'atto dell'iniezione della brodo-coltura furono iniettate spore e queste, germogliando, non trovarono l'organismo sufficientemente preparato a resistere; 2°: o le forme vegetative, inattivate, ma non uccise, ad un dato momento presero il sopravvento sulle difese organiche, non adeguatamente eccitate dal siero curativo. In questo animale era stata praticata una sola iniezione di siero, alla dose di 1 cc., dose inferiore a quella propinata in altri animali, nello stesso periodo di tempo trattati.

Fui allora condotto ad eseguire gli esperimenti seguenti:

Una cavia di 390 gr. il giorno 2-11-19 riceve sotto cute 1 cc. di soluzione fisiologica, nella quale è stato emulsionato il sedimento batterico di una coltura di brodo di 20 ore. Il sedimento è stato ottenuto centrifugando la coltura e lavando ripetutamente; all'esame microscopico si vede qualche rara spora libera. La quantità di sedimento iniettato corrisponde esattamente ad 1 cc. di coltura in brodo.

In giornata l'animale si mantiene vivace ed unico sintomo è un rialzo termico (da 38°,6 a 39°,1). La mattina del giorno appresso, ventidue ore dopo l'inoculazione, l'animale dà segni di agitazione; vengono inoculati sottocute 2 cc. di *antisiero*. Nella giornata l'animale dà segni di malessere e di pronunciato abbattimento: frattanto, *muore il controllo (15^a ora)*: nel pomeriggio, le condizioni dell'animale peggiorano: vengono iniettati 2 cc. di siero, sotto cute. Alle ore 19 dello stesso giorno, 3^a iniezione di siero (2 cc.); Temp. 39°,1.

Nella mattina del 3° giorno, l'animale ha riacquisito quasi totalmente la sua vivacità: Temp. 38°,5. - Alle ore 19: 4^a iniezione di 2 cc. di siero.

Nei 5 giorni successivi viene iniettato sotto cute 1 cc. di siero: tale dose è ridotta a 1/2 cc. nei 5 giorni susseguenti; al 14° giorno il trattamento viene interrotto; ripreso dal 17° al 20° con 1/4 di cc. di siero giornaliero. Dal 21° giorno in poi, nessun trattamento. Alla distanza di 30 giorni dalla iniezione infettante, l'animale sopravvive in buone condizioni.

Collo stesso sedimento fu inoculato sotto cute un coniglio di 800 grammi. Alla 12^a ora l'animale dà segni di malessere e presenta un forte rialzo termico (da 38°,8 a 41°,6). Si iniettano 3 cc. di siero; l'iniezione viene ripetuta sei ore dopo, alla stessa dose.

Il giorno dopo l'animale presenta un arrossamento nel sito di inoculazione, con edema pastoso: iniezione di 2 cc. di siero. Alla sera del 2° giorno le condizioni generali sono migliorate; permangono i fatti locali; Temp. 40°.8.

Nei 3 giorni seguenti il trattamento sierico è continuato alla dose di 4 cc. nelle 24 ore; indi, in dose di 1 cc. fino al 10° giorno, alla quale epoca viene interrotto. Frattanto i fatti locali sono regrediti e l'animale rientra in condizioni normali.

Il controllo morì alla 26^a ora.


Questi due esiti di *profilassi-terapia* ci sembrano interessanti e si prestano a ricerche e considerazioni, delle quali verremo altra volta riferendo.

CONCLUSIONI

L'infezione edemo-gassosa classica non è legata ad una sola unità batterica; tuttavia ristretto è il gruppo dei germi anaerobi, ai quali, in condizioni abituali, possiamo riportarla. Tra questi germi, secondo le nostre ricerche, il posto preminente è tenuto, e quasi a parti eguali, dal *B. perfringens* e da germi affini al *vibrione settico*: il *B. di NOVY* segue a notevole distanza. Alcuni anaerobi, volta a volta incriminati, non hanno eguale importanza (*B. fallax*) o meritano ulteriori conferme.

I gruppi da noi assimilati al *V. settico* comprendono germi non strettamente uniformi tanto per caratteri morfologici, come per estrinsecazioni patogenetiche, e così, a lato di ceppi che per caratteristiche costanti hanno: la presenza di filamenti alla superficie del fegato della cavia e la tendenza gassogena nei tessuti, altri ne stanno, i quali inconstantemente (1° gruppo), o solo in circostanze saltuarie (3° gruppo), danno filamenti, mentre provocano o un quadro edemo-emorragico o sono specialmente edemizzanti, a singolare analogia col quadro dell'*edema maligno clinico*.

Altri caratteri inoltre esistono (*fini particolarità di struttura della colonia, tendenze e modalità di sporificazione, peculiarità morfologiche* [forme a botte, ad arcolaio, a limone], *colorabilità, mobilità, proprietà colturali e biochimiche* [azione sulla caseina e, per certi riguardi, anche sul siero coagulato] ecc. ecc.), i quali, mentre distinguono l'uno dall'altro i gruppi da noi descritti, stabiliscono dei legami di passaggio fra questi ed altri germi, sul tipo di quelli del gruppo del *carbuncchio sintomatico*, nel quale però vengono accomunati germi, nettamente gli uni dagli altri distinti. Di ciò fa fede lo studio dei due campioni da noi

esaminati, dei quali, mentre uno (*C. S. I.*) presenta singolare analogia per forma di colonia, modo di presentarsi del germe nei tessuti e nelle colture (*filamenti*), per le lesioni anatomiche nell'animale da esperimento, con uno o l'altro dei nostri quattro gruppi, il secondo invece (*C. S. II*) bene se ne distingue per forma di colonia e modo di presentarsi del germe nei  ti (*assenza costante di filamenti*).

Attributi fondamentali di tutti questi germi sono però: 1°) *la mobilità*; 2°) *l'assenza di chemismo putrido*; 3°) *la capacità proteolitica modesta e quasi sempre limitata alla digestione della gelatina*.

Su queste basi non torna malagevole accomunare, coi nostri, i gruppi 1° e 3°, recentemente tracciati da E. FRÄNKEL e ZEISSLER, quantunque nel 3° gruppo di questi A.A. la GRAM-negatività possa costituire un carattere di differenziazione.

Dei nostri 4 gruppi, il 2° è quello che più si avvicina al *vibrione settico* di PASTEUR o *edema maligno* di GHON e SACHS.

I germi del gruppo NOVY si distinguono per la più accentuata e, talvolta, per la esclusiva tendenza edemizzante. Parecchi punti di contatto con essi offre il nostro 3° gruppo; la possibilità però in quest'ultimo, benchè molto incostante, a presentarsi in filamenti e la mancanza della neutralizzazione crociata valgono a tenerli fundamentalmente distinti.

Ai tre tipi (*perfringens, vibrione settico, B. di Novy*) è legata, torniamo a ripetere, la noslografia delle infezioni edemo-gassose.

Nello sfondo delle proprietà di tutti questi germi, ma specialmente per quelli dei primi 2 tipi, a lato dell'intimo meccanismo di azione offensiva, che è *quello tossico*, risalta la tendenza del germe a penetrare in circolo. Il fatto, ormai bene assodato in Clinica, è di reperto costante nel Laboratorio e per il nostro 2° gruppo potrebbe anche assurgere al significato sperimentale di una *tossi-bacteriemia*, data l'enorme quantità di germi circolanti, la precocità della loro generalizzazione e la *facilità del reperto nel sangue nei preparati a striscio*.

Del resto, i casi clinici di *metastasi* ed alcune eventualità sperimentali intravvedute da noi e da altri (lesioni endocardiche, polmonari ecc.), appoggiano questo nostro concetto. Il che non contrasta col significato tossico dell'infezione, ammesso ormai che germi eminentemente bacteriemici, come il *C. ematico*, non agiscano, in maggior parte, che per l'intermezzo delle loro tossine

(HANKIN e VESBROOK, BRIEGER e FRÄNKEL, MARMIER, TEDESCHI ecc. ecc.). E se l'analogia colle *tossiemie* pure, tipo tetano e difterite, si può forse mantenere per i germi del gruppo NOVY nel campo clinico, essa cade nel campo sperimentale, inquantochè noi costantemente, per uno dei rappresentanti di questo gruppo (*B. oedematiens*), ottenemmo emocolture costantemente positive. Si rifletta del resto che anche nel *C. ematico* dell'uomo la presenza del germe nel sangue, più che dall'esame diretto, risulta dalla emocoltura (ASKANAZY), precisamente come si verificò in molti dei nostri casi clinici.

L'infezione gassosa quindi potrebbe considerarsi, in linea di massima, come esponente di una *tossi-bacteriemia*, nel senso vero della parola; e da essa deve esulare ogni significato di *intossicazione putrida*, almeno nei casi e sono i più, nei quali la forma si evolve per azione prevalente dei germi gassosi patogeni, che abbiamo imparato a conoscere; fatto del resto dimostrato dal carattere delle lesioni di tessuti ed organi.

La nostra premessa sul significato dei fattori bacterici trasse ad indagare se, al di fuori dei germi abitualmente patogeni, non esistessero condizioni, permettenti o provocanti esplicazioni offensive da parte di microrganismi, abitualmente non patogeni. Ed i risultati degli esperimenti ci portano appunto a concludere per una possibilità di tal genere, dimostrando che condizioni di vita e di ambiente e combinazioni varie *possono conferire carattere di virulenza a germi, che abitualmente ne sono sprovvisti*. Da queste constatazioni può trarre valore il reperto dei germi *non patogeni* circolanti nel sangue, nei casi, nei quali, per condizioni locali e generali, le resistenze organiche si trovano affievolite, mentre non viene scossa l'importanza predominante dei veri anaerobi patogeni, che possono tuttavia, in determinate congiunture, trovarsi menomati nelle loro qualità offensive.

Le infezioni edemo-gassose classiche, debbono, in altri termini, considerarsi alle dipendenze di tipi bacterici bene determinati, capaci di riprodurre, in ogni occasione, uno dei quadri sperimentali classici dell'infezione.

Nei riguardi del trattamento, osserviamo quanto segue: La *siero-profilassi* preventiva è degna della massima considerazione ed il suo valore va forse integrato in misura superiore a quella

apparentemente emersa dagli esperimenti. Con quelli di laboratorio sembrano accordarsi i risultati della Clinica (VAUCHER, RUMPEL).

La *siero-terapia* ha dato sull'uomo risultati superiori a quelli ottenuti sull'animale e tale dissonanza potrebbe ingenerare dubbio sul significato dei risultati clinici, se l'autorità di WEINBERG e SÉGUIN, che degli esiti curativi ebbero a lodarsi, non diminuisse il valore delle eventuali obiezioni.

La *siero-terapia*, in ogni modo, non è fine a sè stessa, ma mezzo coadiuvante e complementare del trattamento chirurgico e di altri presidi terapeutici, non escluso il trattamento *anti-epidémico*, sostenuto da E. WRIGHT.

Il trattamento sierico, qualunque ne sia lo scopo, deve essere *specifico*: e la ragione di ciò è esaurientemente dimostrata dal Laboratorio.

Aggiungiamo infine che allo studio della *vaccino-profilassi* si presenta aperto un campo, fecondo di promesse.

BIBLIOGRAFIA

- ACHALME - Examen bactériologique d'un cas de rhumatisme articulaire aigu avec rhumatisme cérébral terminé par la mort. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1891.
- — Bacilles anaérobies et leur différentiation. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1902, p. 641.
- AIEVOLI - *La Riforma Med.*, 1918, n. 19.
- AIGLAVE - *Bull. et mém. de la Soc. anat. de Paris*, 1909.
- ALBARRAN et COTTET - Note sur le rôle des microbes anaérobies dans les infections urinaires. *Congrès fr. d'urologie*, 1898.
- — Infections urinaires anaérobies. *Congr. Internat. de Méd.*, Paris, 1900.
- ALBRECHT - *Med. Klinik*, 1917, N. 17, S. 490.
- AMENTA - *Giorn. di med. mil.*, 1916, fasc. VI.
- ANDERS - *München. med. Wochenschr.*, 1917, Bd. 50.
- ANDERSON-RICHARDSON - *The British Journal of surgery*, 1917-18, Vol. V.
- ANZILLOTTI - *Clin. Chir.*, 1906, pag. 1298.
- APERLO - La gangrena gassosa o enfisematica. L. Cappelli, 1918.
- ARMKNECHT - *München. med. Wochenschr.*, 1915.
- ASCHOFF - Zur Frage der Aetiologie und Prophylaxe des Gasödems. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1916, n. 17.
- — Ueber bakteriologische Befunde bei den Gasphlegmonen. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1917.
- BAGGIO - *Clin. Chir.* 1917, n. 1-2-3.
- BARDELEBEN - Lehrbuch der Chirurgie. Berlin, 1860.

- BARTOLI - *Policl., Sez. Prat.*, 1916, fasc. 51, pag. 1493.
- BAUMGARTEN - *München. med. Wochenschr.*, 1918, N. 7, u. 8.
- BAUP et STANCULEANU - *Société de Biologie*, 1900.
- BEITZKE - *Berl. klin. Woch.*, 1918, S. 1143.
- BERARD L., LUMIÈRE et DUNET - *Bull. Méd.*, 1918, pag. 146.
- BERNHARDT - *Deutsche med. Wochenschr.*, 1900.
- BERTI - *Notiziario med.-chir. per gli Uff. med. della zona di guerra*, 1917, n. 5.
- BESSON - *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1895, p. 179.
- BEUREN - Riportato in *Pathologica*, 1919, pag. 482.
- BIER - Die Gasphegmone im wesentlichen eine Muskelerkrankung. *Med. Klin.*, 1916, Bd. 14.
- — Anaerobe Wundinfektion, Vortrag 2. *Kriegschirurgische Tagung*, Berlin, 1916.
- BIERMANN - *Münch. med. Wochenschr.*, 1916, N. 44.
- BIERMER - *Archiv. f. experim. Pathologie und Pharmakologie*, 1895, S. 344.
- BILLROTH - *Chirurgische Pathologie und Therapie*, Berlin, 1866.
- BINGOLD - *Deutsche med. Wochenschr.*, 1915, N. 7.
- — *Beiträge zur Klinik der Infektionskrankheiten*, 1915-16.
- BONDY - Citato da WEITZ.
- BONHOFF - *München. med. Wochenschr.*, 1917, N. 23.
- BONI - *Clin. Med.*, 1902, n. 9.
- BORCHERS - *Münch. med. Wochenschr.*, 1915, N. 39.
- BOTTINI - *Atti R. Accad. di med. di Torino*, 1871.
- BRECHOT - Traitement de la gangrène gazeuse. *Progrès méd.*, 1915, p. 456.
- — La gangrène gazeuse. *Presse méd.*, 15 luglio 1915.
- BREMER - *American Journal of med. Soc.*, 1888, p. 594.
- BRIEGER u. EHRLICH - *Berl. klin. Wochenschr.*, 1882, Bd. 44, S. 661.
- BROCA - Les phlegmons gangréneux. *Journal des praticiens*, 1915, n. 18, pag. 273.
- — Septicémie gangréneuse. *Journ. des praticiens*, 1915, n. 11, p. 321.
- BROCA et CHALIER - La gangrène gazeuse. *Journ. des Praticiens*, 1915, n. 21-22.
- BUDAY - *Centralblatt f. Bakt.*, 1898, S. 369.
- BULL - *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1917, n. 20, p. 957.
- BULLOK e CRAMER - *Pathologica*, 1919, p. 482.
- CALÒ - *Policl., Sez. chir.*, 1918.
- CAMERA - *La Clin. Chir.*, 1916, n. 2.
- CAMPENON - *Congr. franç. de Chir.*, 1892.
- CAMPORA - *Gazzetta Osped. e Clin.*, 1916, n. 43.
- CANELLI - *Pathologica*, n. 212, 1917, pag. 341.
- CAVINA - *Il Morgagni*, parte 1^a, 1916, n. 4.
- CERNIC - Gasphegmone. *Wien. klin. Wochenschr.*, 1915, N. 38.
- CESARIS-DEMELE - Sulle cosiddette infezioni gassogene. *Atti R. Accad. Med. di Torino*, 1898.
- — Di un nuovo caso di infezione gassogena. *Atti R. Accad. Med. di Torino*, 1899.
- CHALIER A. - La gangrène gazeuse - Étude clinique et thérapeutique basé sur 45 observations personnelles. *Gazette des Hôpitaux*, 1915, n. 1.
- — Diagnostic et traitement de la gangrène gazeuse. *Progrès méd.*, 1916.
- — Données statistiques tirées de 108 cas de gangrènes gazeuses vraies. *Presse Méd.*, 1917, p. 390.
- CHALIER A. et I. - La Gangrène gazeuse F. Alcan Edit., Paris, 1917.

- CHARRIN - *Bull. de la Soc. d' Anat. de Paris*, 1884.
- CHAUFFARD et TROISIER - *Semaine Méd.*, 1909, n. 40.
- CHAUVEAU et ARLOING - *Bull. Acad. de Méd.*, 1884, p. 604.
- CHAVIGNY - *Ann. de l' Inst. Pasteur*, 1897, p. 860.
- CLESS - Ueber Luft im Blut. Stuttgart, 1854.
- COENEN - Die Bösartigkeit des Gasbrandes. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1917.
- — Ein Ruehblieh auf 20 Monate feldärztliche Tätigkeit. *Brun' s Beitr.*, 103, H. 4.
- CONRADI u. BIELING - Zur Aetiologie und Pathogenese des Gasbrandes. *Münch. med. Wochenschr.*, 1916.
- — Ueber Gasbrand und seine Ursachen. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1917, N. 19.
- CORNEVIN - *Journ. de méd. vétér. et de zootec.*, 1888.
- COSTA et TROISIER - Sur l'association fréquente du pneumocoque et du b. perfringens dans les blessures de guerre, notamment dans le syndrome « Gangrène gazeuse ». *C. R. Soc. Biol.*, 1915, n. 10, p. 283.
- — Sur un groupe de bactéries anaérobies de blessures de guerre intermédiaire entre le b. perfringens et le vibron septique. *C. R. Soc. Biol.*, 1915, n. 14, p. 430.
- COTTET - *C. R. Soc. Biol.*, 1900, 421.
- COURBOULES - Contribution à l'étude de la nature et de la prophylaxie de la septicémie gangréneuse, 1883.
- CHVOSTEK und EGGER - *Wien. klin. Woch.*, 1897.
- D' AGATA - *Il Tommasi*, 1909, n. 6.
- DE ANGELIS - *Gazz. Osped. Clin.* n. 16, 1916.
- DE GAETANO - *Il Tommasi*, 1906.
- DE KMABON - De la gangrène gazeuse benigne, Thèse de Lyon, 1902.
- DELANGLADE - *Bull. et Mém. de la Soc. de Chir.* 1915, p. 683.
- DELBET - *C. R. Soc. Biol.*, 1918, n. 15.
- DERGANZ - *Münch. med. Wochenschr.*, 1916, n. 1.
- DOBBIN - *Bulletin of the John Hopkin' s Hospital*, 1897.
- DOYEN et YAMANOUCI - La flore bactérienne et le traitement des plaies de guerre. *C. R. Soc. Biol.*, 1916, n. 6.
- — Flore bactérienne des plaies de guerre. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1914, n. 29 e 30.
- DOMINICI - *Clin. Chir.*, 1915, n. 11.
- DONATI M. - *XXV Congr. della Soc. Ital. di Chir.*, 1917.
- DUHAMEL - *Deutsche med. Wochenschr.*, 1916, n. 17.
- DUHAM - *Bull. of the John Hopkin' s Hospital*, 1897.
- DUPERIE - Recherches bactériologiques sur quelques cas de gangrène gazeuse. *Gazette hebdom. Soc. Méd. de Bordeaux*, 1915, p. 89.
- — Recherches bactériologiques sur quelques cas de gangrène gazeuse, *Presse méd.*, 1915, p. 309.
- EISENLOHR - *Ziegler' s Beiträge z. pathol. Anat.* 1888. n. 3, S. 101.
- FASIANI - *XXV Congr. della Soc. Ital. di Chir.*, 1917.
- — *Lo Sperimentale*, 1918, fasc. I-II, V-VI.
- FASIANI e ZIRONI - *Lo Sperimentale*, anno LXXI.
- FEHLING - *Kriegschirurgie. Heft 15*, 1916. Citato da STEMMLER.
- FESSLER - *Münch. med. Wochenschr.*, 1916, n. 30 u. 46; 1917, n. 10.
- FICKER - *Deutsche med. Wochenschr.* 1915, n. 20.
- FIÉSSIENGER et BARRIEU - *C. R. Soc. de Biologie*, 1918, pag. 1052.
- FIÉSSIENGER et MEYER - *C. R. Soc. de Biologie*, 1918, pag. 1055.

- FIESSINGER - *Journ. des Praticiens*, 1917, p. 20.
 FIESSINGER et MONTAZ - *C. R. Soc. Biol.*, 1916, p. 495.
 FIESSINGER et VIGNES - *Bull. Soc. méd. des Hôp.*, 1916, p. 470.
 FIORI - *Policlinico, Sez. Prat.* 1917, fasc. 16, pag. 508.
 FLOERCKEN - Beiträge zur Pathologie und Klinik der Gasphegmone, *Brun's Beitr.* 1917, n. 106, H. 4.
 — — Veränderungen des Gehirns bei der Gasphegmone, *München. med. Wochenschr.*, 1918, n. 10.
 FLUEGGE - Die Mikroorganismen. Leipzig, 1896.
 FORNI - Resoconto delle autopsie ecc. ecc. Società anonima tipografica « Leonardo da Vinci », Città di Castello, 1917, pag. 46.
 FRANCKE - Ueber einige Fälle von Gasphegmone, *Münch. med. Wochenschr.* 1915, n. 45.
 — — Ueber die Gasgangrän. *München. med. Wochenschr.* 1914, n. 45.
 — — Ueber malignes Oedem, *Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh.* 1914.
 — — Kritisches über Gasgangrän. *München. med. Wochenschr.*, 1916, n. 13.
 — — Ueber Gasbrand, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1916, n. 50.
 FRAENKEL E. — Ueber Gasphegmone, Leipzig, 1893.
 — — Ueber den Erreger der Gasphegmone, *München. med. Wochenschrift*, 1899, S. 1369.
 — — Ueber Gasphegmone, Schaumorgane und deren Erreger, *Zeitschr. f. Hygiene*, 1900, n. 40, Heft. 1.
 FRAENKEL ERNST - *Centralbl. f. Bakt.*, I Orig. 1918, S. 444.
 FRAENKEL E. und ZEISSLER I. *München. med. Woch.*, 1919, 5, 39.
 FRANCHINI - *Gazzetta degli Osp. e delle Clin.*, 1917.
 FRUEND - *Kriegschirurgie*, Heft 13, 1916.
 FUERTH - *München. med. Wochenschr.*, 1916, n. 32.
 GAUDIANI - *Annali di Igiene sp.*, 1908, N. 4, p. 647.
 GAZA V. - *Kriegschirurgie*, Heft, 13, 1916. Citato da STEMMLER.
 GERHARDT C. - *Deutsche Chirurgie*, 1892, 43.
 GIRONI - *Rivista Ospedal.*, 1916, N. 5.
 GOEBEL - *Jarbücher der Hamburger Staats-Krankenanstalten*, 1893-94, Bd. 42, S. 402.
 GRASSBERGER u. SCHATTFROH - *München. med. Wochenschr.*, 1900, 30 u. 31.
 GREGGIO - *Gazzetta Osped. e Clin.*, 1916, N. 66.
 GRIXONI - *Giornale medico del R. Esercito*, luglio 1905, pag. 10.
 GUÉNLOT - Deux cas de gangrène gazeuse du cou. *Académie de Méd.*, 1915.
 GUERMONPREZ - Gangrène gazeuse. Paris, Rousset Edit., 1916, 2^e edit.
 GUILLEMOT - *Soc. de Biol.*, nov. 1898, p. 1017.
 GUILLEMOT et SAUPAULT - *Soc. méd. des Hôpitaux*, 1900.
 HAGEMANN - Gasphegmone. *Südwestdeutscher Kirurgentag Heidelberg*, 1916.
 HAMIG u. SILBERCHMIDT - *Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte*, 1900, S. 361.
 HANASIEWIKIZ - *München. med. Wochenschr.*, 1916, N. 28.
 HANCKEN - *München. med. Wochenschr.*, 1917, N. 38.
 HANUSA - *Brun's Beitr.*, Bd. 107, H. 3.
 HARTUNG - *D. Zeit. f. Chirurgie*, 1918, Band 146.
 HAUTEFEUILLE I. - *C. R. Soc. de Biologie*, 1918, p. 1068.
 HEIM - *München. med. Wochenschr.*, 1917, N. 38.
 HEINEKE - *Deutsche Chirurgie*, 18, 1885.
 HEYDENREICH - *Centralblatt f. Bakteriologie*, XXI, 1897.
 HEYSE - *Zeitschrift f. klin. Med.*, 1894, Bd. 24, S. 130.

- HINTZE - *München. med. Wochenschr.*, 1895, N. 10.
- HITSCHMANN und LINDENTHAL - *Sitz. d. kais. Akad. d. Wissen. in Wien*, Bd. CX, 1901
- — *Wiener klinische Wochenschrift*, 1900, 46.
- HODESMANN - *Deutsche med. Wochenschr.*, 1917, N. 22.
- JACOBELLI - *Riv. med.*, 1904.
- JACOBSON - *Deutsche med. Wochenschr.*, 1917, Bd. 22.
- IMBERT - *Mitteilungen aus den Grenzgebiete der Medicin und Chirurgie*, Bd. 6, S. 605, 1900.
- IMPALLOMONTI - *Clin. Chir.*, 1916, n. 2.
- JOB et ROUX - *Journal de Chirurgie*, 1918, pag. 233.
- INTOSH I. M. - *Publication du Medical Research Comité*, nov. 1917. (*Bull. Inst. Pasteur*, 1919.
- JUNGANO - *Infezioni dell'apparato urinario, con speciale riguardo alla presenza degli anaerobi*. F. Sangiovanni, Edit., Napoli, 1908.
- — *Ricerche batteriologiche nelle infezioni urinarie*. *Assoc. Ital. d'urologia*, 1908.
- JUNGLING - *Brun's Beitr.*, 107, H. 3.
- KAUSCH - *Ueber die Gasphlegmone*, *Kriegschirurgie*, Heft 5, 1915.
- — *Ein Beitrag zur Kenntnis der anaeroben Wundinfektion*. *München. med. Wochenschrift*, 1917, n. 9.
- — *Toxin und Antitoxinversuche mit einem zur Gruppe des Gasödembazillus gehorenden Anaeroben*. *München. med. Wochenschr.*, 1917, n. 48.
- KEHL - *D. Zeit. f. Chirurgie*, Bd. 142, S. 303.
- KERCHENSTEINER - *Deutsche Archiv f. klin. Med.*, 1901, S. 30.
- KOCH W. - *Deutsche Chirurgie*, Bd. 9, 1886.
- KOLLE, RITZ, SCHLOSSBERGER - *Med. Klin.*, 1918.
- KOLACZEK - *Brun's Beitr.*, Bd. 103, H. 2.
- KORENTCHEWSKY - *Ann. Inst. Pasteur*, 1909, p. 91.
- KROPAC - *Langenbek's Arch. f. klin. Chir.*, 1905.
- KUMMEL - *Congresso tedesco di chirurgia*, Bruxelles.
- LACAPÈRE et LENORMANT - *Presse méd.*, 1915, n. 4.
- LAPEYRE - *Presse méd.*, 15 luglio 1915.
- LAPOINTE - *Progrès méd.*, 1915.
- LARDENNOIS et BAUMEL - *Presse méd.*, 1917, p. 506.
- LÄWEN und HESSE - *D. Zeit f. Chirurgie*, Bd. 144, S. 330.
- LECLAINCHE - *Sur la sérothérapie de la gangrène gazeuse*. *Arch. méd. de Toulouse*, 1898, vol. 3, p. 397.
- LECLAINCHE et MOREL - *La sérothérapie de la septicémie gangrèneuse*. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1901, p. 1.
- LE DENTU - *Assoc. franç. pour l'avancement des Sciences*, 1878.
- LEGROS G., - *Recherches bacteriologiques sur les gangrènes gazeuses aiguës*. *Paris*, 1902.
- — *Recherches histologiques sur le gangrènes gazeuses aiguës*, *Arch. de méd. exp. et d'anat. path.*, 1903.
- LEGROS - *Le traitement de la gangrène gazeuse dans les ambulances anglaises*.
- — *Un cas de gangrène gazeuse*. *Association du B. perfringens et du B. oedematiens*, *Presse méd.*, 1917, n. 11, p. 101.
- — *Gangrène gazeuse de la région scapulaire, avec destruction musculaire, causée par le B. histolyticus (Weinberg et Séguin)*. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1918, n. 2.

- LEGROS et LECÈNE - Un cas de gangrène gazeuse aigüe mortelle. *C. R. Soc. de biol.*, 1901, p. 680.
- LEMAITRE - *Presse méd.*, 1915, p. 308.
- LEOTTA - *R. Accad. med. di Roma*, 27, II, 1916, Poliel., Sez. Prat. 1916, n. 16, p. 499.
- LESNÉ et PHOCAS - *C. R. Acad. des Sciences*, 1916, p. 174.
- LEVY, COTTET et LATARGET - *Paris méd.*, 1915, p. 311.
- LEVY, FOURCADE et BOLLACK - *C. R. Soc. Biol.*, 1915, n. 10, p. 284.
- LEVY E. - *Deutsche Zeitschr. f. Chirurg.*, 1891, Bd. 32, S. 248.
- — *Archiv. f. experim. Pathologie u. Pharmacologie*, 1895, S. 334.
- MAISONNEUVE - *Gazette méd. Paris.*, 1853.
- MARCHANT - *Congrès français de Chir.*, 1892.
- MARQUARDT - *München med. Wochenschr.* 1916, Bd. 4.
- MARVEDEL - Einige Beobachtungen über die Wundinfektion. *München. med. Wochenschr.*, 1916, N. 27.
- — Ueber offene und ruhende Gasinfektion. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1917, N. 25 - 27.
- WEHRIG u. MARVEDEL - *Med. Wochenschr.*, 1915, Bd. 30.
- MAUCLAIRE - *Bull. de la Soc. de Chir.*, 1915, p. 1365.
- MELCHIOR - *Brun' s Beitr.* Bd. 103, H. 3.
- MENEREUL - *Ann. Inst. Pasteur*, 1895, pagina 354.
- MILIAR G. - *Bull. de la Soc. anatomique* Juillet-Août, 1909.
- MOIRAND et VIGNES - La gangrène gazeuse et les plaies gangreneuses. A. Maloine, Edit. Paris, 1916.
- MOLLIÈRE - *Lyon Méd.*, 1881, p. 325.
- — De la gangrène gazeuse. *Lyon méd.*, 1882, p. I.
- MORAND - De la septicémie gangréneuse aigüe. Thèse de Montpellier, 1877.
- MUSCATELLO - Per l'etiologia della gangrena progressiva enfisematica. *Arch. per le scienze mediche*, 1896, fasc. III, pag. 357.
- MUSCATELLO e GANGITANO - Ricerche sulla gangrena gassosa. *Rif. Med.*, 1898, p. 471.
- — Sulla gangrena gassosa. *Rif. med.*, 1900 num. 118 - 119 - 120.
- NACCIARONE - *Rif. med.*, 1917, N. 31 e 32.
- NEVIN - Riportato in *Patologica*, 1919, pag. 482.
- NICOLLE, CESARI et RAPHAEL - *Ann. Inst. Pasteur*, 1915, p. 176.
- NIGST - *München. med. Woch.*, 1919, p. 377.
- — *Allgem. Zeitschr. f. Psychiatrie*. 1901, S. 685.
- OLIVA - *Rif. Med.*, 1917, n. 7 - 8 - 9.
- OMBREDANNE - *Paris Méd.* 1915, n. 42, p. 360.
- ORI - *R. Accademia Fisiocritici in Siena*. Serie IV, vol. XVII.
- ORION - *Bull. de la Soc. de Chir.* 1915.
- ORLANDI - *Gazzetta Medica di Torino*, 1896.
- PACINOTTI - *Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche*, 1896.
- PAYR - Ueber Gasphlegmonen im Kriege, *München. med. Wochenschr.*, 1915, Bd. 2.
- PASINI - *Gazz. Osped. e Cliniche*, 1915, n. 62, p. 973.
- PASTEUR - *Bull. Acad. de Méd.*, 1881, p. 176.
- PELFER und BESSAU - *D. med. Woch.*, 1917, n. 39 e 41.
- PENDE - *Bollettino della Soc. Lancisiana* - anno 27°, fasc. 2.
- PENZO - *Arch. Ital. biol.*, 1891.

- PEREZ - *Policl.*, Sez. *Prat.*, fasc. 38, p. 1280, 1915.
- PFAUNER - *Med. Klin.*, 1915, n. 40.
- PHOCAS - *Bull. Soc. de Chir.*, 1915, p. 1933.
- PICCHI - *Lo sperimentale*, 1907 p. 179.
- PIROGOFF - *Grundzüge der allgemeinen Kriegschirurgie*, 1864.
- PRAT - *Acad. de méd.*, 1915.
- PRIERAM - *München. med. Wochenschr.*, 1915, n. 41.
- PROPPING - *München. med. Wochenschr.*, 1917, n. 18.
- C. RAMALHAO - *Bull. Inst. Pasteur*, 1919.
- RANFT - *München. med. Wochenschr.*, 1916, n. 47.
- RAPHAEL - *Ann. Inst. Pasteur*, 1914, p. 564.
- RAPHAEL et FRASEY - *C. R. Acad. des Sciences*, 1915, p. 361.
- RAVAUT - *Presse méd.*, 1914, n. 78, p. 712.
- REGNAULT - *Revue de Chir.*, 1903.
- REINHARDT - *München. med. Wochenschr.*, 1916, Bd. 36.
- REVEL - *Bull. et Mém. de la Soc. de chir. de Paris*, 1915, p. 1716.
- REVERCHON et VAUCHER - *C. R. Soc. Biol.*, 1915, n. 6, p. 146.
- RICARD - *Traité de chir. clin. et opér. de Le Dentu et Delbet*, 1896, 1^{re} Ediz. Vol. 1 pag. 135.
- RIST - *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1905, n. 1.
- RITTER E. - *Wien. kl. Woch.*, 1917, s. 1258.
- RITTER - *Kriegschirurgie*, Heft 10, 1915.
- RIZZO - *Arch. intern. di chir.*, 1913.
- ROBERTSON - *British med. Journal*, maggio 1918.
- ROCCHI - *Policl.* Sez. *Prat.*, 1917.
- ROSENTHAL - *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1907.
- ROSENTHAL et CHAZARIN-WETEEL - *C. R. Soc. de Biol.*, 1909.
- ROSENTHAL et JOURDAN - *C. R. Soc. Biol.*, 1910, n. 22, p. 1044.
- ROUX et CHAMBERLAND - *Ann. Inst. Pasteur*, 1887, vol. 1, pag. 561.
- RÜBSAMEN - *München. med. Wochenschr.*, 1916, n. 41.
- RUMPEL O. - *Deut. Zeitschr. f. Chirurgie*, Bd. 148, 1919.
- SACQUÉPÉE - Le bacille de l'œdème gazeux malin, *C. R. Soc. Biol.*, 1915, n. 11, 16 e 18.
- — La flore initial habituelle et la flore de passage dans la gangrène gazeuse, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1918, n. 10.
- — Sur le b. bellonensis (ancien b. de l'œdème gazeux malin). Préparation de sérums spécifiques, quelques propriétés essentielles des sérums, *C. R. Soc. Biol.*, 1917, n. 18.
- — Recherches sur la gangrène gazeuse des plaies de guerre, *Presse méd.*, 1916; pag. 194.
- — Etudes sur la gangrène gazeuse: le bacille de l'œdème gazeux malin, *Annales Inst. Pasteur*, 1916.
- — Démonstration expérimentale des lésions des gangrènes gazeuses, *Presse méd.*, 1915, p. 242.
- — La septicémie gazeuse et l'œdème gazeux malin, *Presse méd.*, 1916, p. 227.
- — Sur la gangrène gazeuse. Septicémie gazeuse et œdème gazeux malin, *Presse Méd.*, 1915, p. 218.
- SACQUÉPÉE - A propos du traitement de la gangrène gazeuse, *Progrès Méd.*, 1915.

- SACQUÉPÉE - Quelques procédés d'isolement des bactéries pathogènes. Signification pathogénique des résultats dans la gangrène gazeuse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1918, n. 10.
- SACQUÉPÉE, DE SAVERGNE e DEHORME A. - *C. R. Soc. de Biologie* 1918, pag. 944.
- SALLERON - *Recueil de Méd., de Chir. et de Pharm. milit.*, 1858, vol. 21, p. 300.
- SANDLER - *Centralblatt f. allg. Path.*, 1902.
- SANFELICE - Contributo allo studio dei batteri patogeni aerobi ed anaerobi che si trovano costantemente nel terreno. *Ann. Ist. di Igiene sper. Univ. Roma*, nuova serie, 1891, Vol. I, p. 365.
- — Bacillo del pseudoedema. *Ann. dell' Ist. d' Igiene sper. Univ. di Roma*, Nuova serie, 1891.
- SBROZZI - *Riv. Osped.*, 1918, n. 15, p. 425.
- SCALONE - *Policl., Sez. chir.*, 1917, n. 9, p. 374.
- SCHÉDE - *München. med. Wochenschr.*, 1914, n. 42; *Deutsche Zeitschr. f. Chir.*, Bd. 133.
- SCHLOSSMANN - *München. med. Wochenschr.*, 1915, n. 48.
- SCHUPFER - *Policlinico, Sez. med.*, 1905.
- SCHMID - *Deutsche med. Wochenschr.*, 1915, n. 48.
- SEEFISCH - Die Gasphlegmone in Felde. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1915, Bd. 9.
- — Zur Frage der offenen Wundbehandlung. *Kriegschirurgie*, Hefte 15, 1159.
- SELTZER - *Deutsche med. Wochenschr.*, 1915, n. 40.
- SENECHAL P. - *Progrès Méd.*, 1916, p. 137.
- SICK - *München. med. Wochenschr.*, 1914, n. 46.
- SIEGERT - *D. Zeit. f. Chirurgie*, Bd. 142, dicembre 1917.
- SIMMOND - A propos de l'emploi du sucre, dans le traitement des plaies infectées par le b. perfringens. *C. R. Soc. Biol.*, 1916, n. 17.
- — A propos des effets de l'oxygène sur le b. perfringens. *C. R. Soc. Biol.*, 1916, n. 17.
- STEINHARDT-HARDE - *C. R. Soc. Biol.*, 1915, n. 6, p. 134.
- STEMMLER - Die putride Wundinfektion. *Deutsche Zeitschr. f. Chir.*, Bd. 143.
- — Der ischämische Gewebszerfall usw. *Deutsche Zeitschr. f. Chir.*, Bd. 144, H. 3. 4.
- — Die Differentialdiagnose des Gasbrandes. *Deut. Zeit. f. Chirurgie*, Bd. 148.
- STRAUSS - *Med. Klin.*, 1917, Bd. 25.
- STOLZ - *Beitr. z. klin. Chirurgie*, Bd. XXXIII.
- TAVERNIER - *Lyon chir.*, 1915.
- TAYLOR - La gangrène gazeuse. Evolution et traitement. *Arch. de Méd. et de Pharm. milit.*, 1916, vol. 66, p. 838.
- — Note sur deux cas mortels de gangrène gazeuse metastatique. *Arch. de Méd. et de Pharm. milit.*, 1916, vol. 66, p. 353.
- TAROZZI G. - Sulla possibilità di coltivare facilmente all'aria in cultura pura i germi anaerobi. *Atti della R. Accad. dei fisiocritici in Siena*, Serie IV, vol. XV.
- — Sulla latenza delle spore del tetano nell'organismo animale e sulla possibilità ecc. *Atti della R. Accad. dei fisiocritici*, serie IV, vol. XVII, Siena 1905.
- — Osservazioni sulla natura dei fenomeni che determinano l'esigenza anaerobica nelle culture dei germi anaerobici. *Atti della R. Accad. dei fisiocritici in Siena*, Serie IV, vol. XVII.
- — Ulteriori osservazioni sulla cultura aerobica dei germi anaerobici. *Atti della R. Accad. dei fisiocritici in Siena*, Serie IV, vol. XVII.

- TAROZZI G. — Sulla biologia di alcuni germi anaerobici e su di un facile mezzo di coltura dei medesimi. *Riforma medica.*, anno XXI, n. 6, 7, 8.
- THIES A. — *Deut. med. Woch.*, 1918, S. 399.
- — Die Behandlung chirurgischer Infektionen mit rhythmischer Stauung. *München. med. Wochenschr.*, 1916, n. 32.
- — Die Behandlung der Gasphegmone mit der rhythmischen Stauung. *Brun's Beitr.*, Bd. 105, H. 2.
- TIBERTI — La gangrena gassosa. *Trattato di Parassitologia di Lustig*. F. Vallardi Edit., 1915, vol. II, p. 257.
- — L'edema maligno. *Trattato di parassitologia di Lustig*. Milano, F. Vallardi Edit., 1915, vol. II, p. 246.
- TRETZE und KORBSCHE — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1915, n. 12.
- TRIFAUD — *Rev. de chir.*, 1883, p. 776.
- TRILLAT — *Bull. Acad. de Méd.*, 1915, p. 609.
- TUFFIER — *Bull. de la Soc. de chir.*, 1915, p. 1321.
- UFFENHEIMER — *Ziegler's Beiträge*, Bd. 31, S. 383, 1901.
- VEILLON et ZUBER — Sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle dans la pathologie humaine, *Arch. de méd. expér.*, 1898.
- VELPEAU — *Union médicale*, 1855, p. 58.
- VENNIN — Note sur la gangrène gazeuse. *Bull. de la Soc. de chir.*, 1915, p. 567.
- VENNIN, GIRODE et HALLER — Note sur le traitement de la gangrène gazeuse. *Bull. Mém. Soc. de chir.*, 1915.
- VEZEUX de LAVERGNE — *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1918 n. 13.
- VIGNAUT — *Bull. Mém. Soc. de chir.*, 1915.
- VINCENT — Les plaies de guerre et la prophylaxie des infections chirurgicales. *Presse Méd.*, 1917, p. 65.
- VINCENT et STODEL — Influence du traumatisme sur la gangrène gazeuse expérimentale et sur le réveil de cette infection. *C. R. Acad. des Sciences*, 1917, p. 870.
- VOGEL — *München. med. Wochenschr.*, 1917, N. 9.
- VOUZELLE — *Presse méd.*, 1915, p. 456.
- WEDERHAKKE — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1917, N. 36.
- WEINBERG et SÉGUIN — La gangrène gazeuse. Masson et C. Edit., Paris. 1918 (vi si trova notizia delle numerose ricerche pubblicate in precedenza dai due A. A.).
- WEITZ — *Münch. med. Woch.*, 1919, S. 730.
- WELCH and FLEXNER — *Journal of exp. medicine.*, 1896.
- WELCH and NUTTAL — *Bulletin of the John Hopkin's Hospital*, 1892.
- WESTENHOFFER — *Virchow's Arch.* Bd. 168. 1902.
- WIETING — *Deutsche Zeitschr. f. Chir.*, Bd. 141, H. 1-2.
- WILSON F. — *The Lancet*, 1919, pag. 657.
- ZEIBLER — *Deutsche med. Wochenschr.* 1917, N. 28, n. 48.
- ZINDEL — Worauf beruht der Unterschied d. Mortalität des Gasbrandes im Kriege und im Frieden. *München. med. Wochenschr.*, 1916, N. 47.
- — Die neueren Arbeiten über Gasphegmone. *Brun's Beitr.*, Bd. 105, H. 2.
- ZIRONI e CAPONE — Sulle infezioni miste. *Lo Sperimentale*, anno LXXII, fasc. V-VI.
- — Sulla agglutinazione spontanea degli anaerobi. *Lo Sperimentale*, anno LXXIII, fasc. I-II.

11.A.284.
Infezioni gassose; studio clini1920
Countway Library BEI9685



3 2044 045 814 563

11.A.284.
Infezioni gassose; studio clini1920
Countway Library BEI9685



3 2044 045 814 563